UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE ÁRVORES MATRIZES DE *Guazuma ulmifolia* Lam..

João José Prieto Flávio
Engenheiro Agrônomo

JABOTICABAL - SP - BRASIL
2010

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

CAMPUS DE JABOTICABAL

DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE ÁRVORES MATRIZES DE *Guazuma ulmifolia* Lam..

João José Prieto Flávio

Orientador: Prof. Dr. Rinaldo Cesar de Paula

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas)

JABOTICABAL - SP - BRASIL
Julho de 2010

Flávio, João José Prieto
F589d Divergência genética entre árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam. / João José Prieto Flávio. – – Jaboticabal, 2010
viii, 87 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010
Orientador: Rinaldo Cesar de Paula
Banca examinadora: Fabiola Vitti Moro, Miguel Luiz Menezes Freitas
Bibliografia

1. Caracteres biométricos. 2. Marcadores moleculares. 3. Sementes florestais. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.52:634.0.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

unesp UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE JABOTICABAL
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE ÁRVORES MATRIZES DE *Guazuma ulmifolia* Lam..

AUTOR: JOÃO JOSÉ PRIETO FLÁVIO

ORIENTADOR: Prof. Dr. RINALDO CESAR DE PAULA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE em AGRONOMIA (GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. RINALDO CESAR DE PAULA
Departamento de Producao Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Profa. Dra. FABIOLA VITTI MORO
Departamento de Biol Aplicada A Agrop / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. MIGUEL LUIZ MENEZES FREITAS
Estação Ecológica de Ribeirão Preto / Instituto Florestal de São Paulo

Data da realização: 13 de julho de 2010.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

JOÃO JOSÉ PRIETO FLÁVIO – Filho de José Roberto Flávio e Maria Isabel Martins Prieto Flávio, nasceu aos 6 dias do mês de abril do ano de 1985, na cidade de Franca, SP. É Engenheiro Agrônomo, formado pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), tendo concluído o curso no mês de dezembro de 2007. Durante a graduação foi bolsista de Iniciação Científica do CNPq/PIBIC durante 3 anos. Concluiu o curso de Mestrado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), na mesma instituição, em julho de 2010, onde foi bolsista do CNPq e representante discente no conselho do programa de pós-graduação.

"O caminho da sabedoria é longo através de preceitos, breve e eficaz através de exemplos."

SÊNECA

Aos meus pais Maria Isabel Martins Prieto Flávio e José Roberto Flávio, por todo o incentivo, apoio, carinho e compreensão durante toda essa trajetória

DEDICO.

Aos meus familiares, pela referência e estrutura construída durante toda vida

OFEREÇO.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP Câmpus de Jaboticabal e seus docentes pela oportunidade oferecida para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao professor Rinaldo Cesar de Paula pela orientação e por todo o ensinamento, dedicação, apoio e amizade durante todos esses anos de constante aprendizado.

Aos membros da banca examinadora, Fabiola Vitti Moro e Miguel Luiz Menezes Freitas, pelas correções e sugestões feitas a esse trabalho.

À professora Bianca Waleria Bertoni pelo auxílio na realização das análises moleculares através da técnica AFLP e pela permissão para que as mesmas fossem efetuadas na Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP.

Ao Victor Alexandre Ferreira pela ajuda no georreferenciamento das árvores matrizes.

À Maria Gabriela Fontanetti Rodrigues pelo apoio, companheirismo, carinho e compreensão, além do auxílio na realização de várias etapas do trabalho principalmente na realização da técnica AFLP.

Aos grandes amigos que me acompanharam durante todo esse período pelos momentos de descontração, pela ajuda e por todos os conselhos nos momentos de dificuldade e nos de alegria.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

Página

RESUMO..... **vii**

SUMMARY..... **viii**

1. INTRODUÇÃO..... **01**

2. REVISÃO DE LITERATURA..... **04**
2.1. *Guazuma ulmifolia* Lam. 04
2.2. Biometria de Frutos e Sementes..... 06
2.3. Qualidade Fisiológica de Sementes..... 08
2.4. Marcadores Moleculares AFLP..... 13
2.5. Divergência Genética..... 15

3. MATERIAL E MÉTODOS..... **19**
3.1. Avaliação Biométrica de Frutos e Sementes..... 19
3.2. Tratamento Pré-germinativo de Sementes..... 25
3.3. Teste de Germinação..... 25
3.4. Teste de Envelhecimento Acelerado..... 26
3.5. Teste de Condutividade Elétrica..... 27
3.6. Correlação Entre Caracteres..... 27
3.7. Marcadores Moleculares AFLP..... 28
3.8. Divergência Genética Entre as Matrizes..... 32

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... **35**
4.1. Biometria de Frutos e Sementes..... 35
4.2. Teste de Germinação..... 37
4.3. Testes de Envelhecimento Acelerado e Condutividade Elétrica..... 40
4.4. Correlação Entre Caracteres..... 43
4.5. Marcadores Moleculares AFLP..... 45
4.6. Divergência Genética Entre as Matrizes..... 49
4.6.1. Divergência genética através de características de frutos e sementes..... 49
4.6.2. Divergência genética através de marcadores moleculares AFLP..... 57
4.6.3. Comparação entre a divergência genética por características de frutos e sementes e por marcadores moleculares AFLP..... 62

5. CONCLUSÕES..... **65**

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... **66**

DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE ÁRVORES MATRIZES DE *Guazuma ulmifolia* Lam..

RESUMO - O presente trabalho objetivou avaliar diferentes árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam. a partir de caracteres biométricos de frutos e sementes, parâmetros da qualidade fisiológica de sementes e por marcadores moleculares AFLP. Foram amostradas 41 árvores matrizes no município de Jaboticabal, SP. Para a análise biométrica avaliou-se a massa fresca de frutos e sementes, o comprimento e o diâmetro dos frutos. O teste de germinação foi conduzido a 30 ºC, sobre duas folhas de papel mata-borrão e fotoperíodo de 8 h. O teste de envelhecimento acelerado foi conduzido a 45 ºC por 96 h e o teste de condutividade elétrica foi conduzido a 25 ºC por 24 h. O delineamento estatístico foi o de blocos casualizados, com quatro repetições por tratamento, e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). Para a análise molecular, realizou-se o bandeamento produzido por cada "primer", conferindo o parâmetro "1" para a presença e "0" para a ausência de banda. A divergência genética foi determinada pelos métodos de Tocher e UPGMA para os dados de sementes e frutos e pelo método UPGMA para os dados moleculares. Há grande variação entre os caracteres avaliados; os testes de germinação e envelhecimento acelerado evidenciam a variabilidade na qualidade das sementes; o teste de condutividade elétrica não é eficiente para discriminar as árvores matrizes; a análise molecular foi eficiente para a discriminação das árvores matrizes; não há relação entre os agrupamentos das árvores matrizes pelos diferentes métodos, sendo, a combinação dos mesmos, útil na maximização do potencial genético do germoplasma avaliado; recomenda-se coletar sementes de maior número possível de árvores matrizes para garantir a representatividade da variabilidade genética da espécie.

Palavras-Chave: caracteres biométricos, conservação genética, marcadores moleculares, mutamba, sementes florestais, vigor de sementes

GENETIC DIVERGENCE AMONG *Guazuma ulmifolia* Lam. MOTHER TREES.

SUMMARY - This study aimed to evaluate different *Guazuma ulmifolia* Lam. mother trees as to fruits and seeds biometric characters, seeds physiological quality indices and aflp molecular markers, in 41 mother trees sampled of Jaboticabal, state of São Paulo, Brazil. For biometric characterization, the fresh weight fruits and seeds, length and diameter of fruits were determined. The germination test was carried out two sheets of blotting paper, under temperature of 30 °C and a photoperiod of 8 hours. The accelerated aging test was conducted under temperature of 45 °C for 96 hours, and the electrical conductivity test was conducted under temperature of 25 °C for 24 hours. The statistical analysis was randomized block design with four replications per treatment, and means were compared by Scott-Knott test ($P \leq 0,05$). For molecular analysis, were carried banding produced by primers, giving indice "1" for presence and "0" for band absence. The genetic divergence among mother trees was measured by Tocher and UPGMA methods for seeds and fruits traits, and UPGMA method for molecular analysis. There is great variation among traits evaluated; the germination and accelerated aging tests show evidence variability in physiological quality seeds from different mother trees; the electrical conductivity test is not useful for distinguishing the mother trees regarding the physiological quality seeds; the molecular analysis was efficient to cluster different mother trees; there is no relation between mother trees grouping by different methods, and, the combination between methods information, will be useful in the genetic potential maximization of evaluated germplasm; recommended to collect seeds largest possible number of mother trees to ensure representation of genetic variability.

Keywords: biometric characters, forest seeds, genetic conservation, molecular markers, mutamba, seeds vigor

1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda por sementes e mudas de espécies arbóreas nativas, deve-se, em grande parte, à atuação mais rigorosa dos órgãos de fiscalização, da legislação ambiental cada vez mais exigente e da própria conscientização dos agentes de transformação da sociedade, sejam eles, educadores, políticos, empreendedores, dentre outros (PAULA, 2007).

De acordo com o autor, questiona-se, por exemplo, sobre a variabilidade genética das mudas das espécies trabalhadas, sobre qual o número de matrizes e como estas estão sendo selecionadas para a coleta de sementes, dentre outros. O conhecimento da variabilidade e da base genética das sementes utilizadas é imprescindível para a garantia da sustentatibilidade dos plantios, sejam eles com finalidades produtivas e, ou conservacionistas. Dessa forma, o uso de um número relativamente grande de matrizes para a coleta de sementes e produção de mudas, por si só, não é garantia de base genética suficiente na população (mudas) resultante o que poderá, a curto e médio prazo, trazer conseqüências negativas em termos de sustentabilidade dos trabalhos de revegetação.

Guazuma ulmifolia Lam., popularmente conhecida como mutambo, pertence à família Sterculiaceae e ocorre em praticamente todo o país, desde a Amazônia até o Paraná, principalmente na floresta latifoliada semidecídua. É uma espécie comumente encontrada no cerrado brasileiro, sendo bastante recomendada para recuperação de áreas degradadas (LORENZI, 2002). É uma espécie pertencente aos estágios iniciais de sucessão secundária, sendo considerada como espécie pioneira na regeneração de áreas (PAIVA SOBRINHO & SIQUEIRA, 2008).

Estudos de divergência genética são extremamente importantes no contexto de trabalhos de conservação genética e manutenção de bancos de germoplasma. A identificação de acessos semelhantes em populações naturais e, ou bancos de germoplasma, por meio da identificação da divergência, direcionam trabalhos de coleta de sementes e descarte de materiais redundantes (MARTINELLO et al., 2002; PEREIRA et al., 2003). A utilização de caracteres biométricos, fisiológicos e de

marcadores moleculares em espécies vegetais constitui um importante instrumento na realização destes estudos.

Dentro da mesma espécie, existem variações individuais devidas às influências de fatores bióticos e abióticos, durante o desenvolvimento das sementes e à variabilidade genética. Assim, as características referentes às sementes podem variar entre plantas da mesma espécie, de ano para ano e, também, dentro de uma mesma planta (PIÑA-RODRIGUES & AGUIAR, 1993).

Nas espécies arbóreas tropicais existe grande variabilidade com relação ao tamanho dos frutos, número de sementes por fruto e tamanho das sementes (CRUZ & CARVALHO, 2003). Mesmo com valor taxonômico questionável, os dados biométricos de frutos e sementes têm valor ecológico indiscutível, auxiliando na determinação da variabilidade da espécie, bem como no estudo do tipo de dispersão e dos agentes dispersores (MARTINS & OLIVEIRA, 2001).

De acordo com VALENTINI & PIÑA-RODRIGUES (1995), a aplicação de testes de vigor em sementes de espécies florestais é uma prática que permite estimar e comparar lotes de sementes para diferentes objetivos. A simplicidade, inerente a vários destes testes, aliada aos bons resultados, tornam-os de utilização promissora em vários campos de pesquisa. Comparações de vigor de sementes entre matrizes, progênies e procedências, oferecem ao pesquisador dados adicionais em uma fase inicial de um programa de melhoramento ou conservação genética. Entre os testes de vigor de utilização promissora em sementes de espécies florestais destacam-se os testes de envelhecimento acelerado e condutividade elétrica.

O sucesso de qualquer programa de melhoramento ou de conservação é dependente do conhecimento da quantidade de variação presente na espécie de interesse. Caracteres morfológicos e agronômicos, usados para a medição da diversidade genética em determinadas populações de indivíduos possuem uma grande dificuldade na identificação de grupos taxonômicos discretos. Esta dificuldade deve-se ao fato de que a grande maioria dos caracteres vegetais são influenciados por fatores ambientais, exibindo variação contínua e um alto grau de plasticidade fenotípica. Para

tentar solucionar estes problemas, técnicas envolvendo marcadores moleculares têm sido utilizadas para monitorar a variabilidade genética (PARKER et al., 1998).

Atualmente, muitos métodos estão disponíveis para analisar a diversidade molecular em populações de plantas. Essas metodologias diferenciam-se pela técnica utilizada para revelar a variabilidade ao nível de DNA, e assim variam quanto à habilidade em detectar diferenças entre indivíduos, custo, facilidade de uso, consistência e reprodutibilidade (MILACH, 1998). Dentre os diversos tipos de marcadores atualmente disponíveis destacam-se os marcadores AFLP (Amplified Fragment Lenght Polymorphism), técnica primeiramente descrita por VOS et al. (1995), que gera um grande número de marcas que são representativas do genoma da espécie estudada, com uma alta reprodutibilidade de informações. Altos níveis de diferenciação podem ser encontrados pelo marcador AFLP, por conta das diferenças de herança e ploidia. Diversidade e diferenciação são dependentes não somente devido a marcas específicas, mas também à taxa de mutação, homoplasia, herança e também à intensidade de fluxo gênico entre populações (RIBEIRO et al., 2002).

Portanto, o objetivo deste projeto foi determinar a divergência genética por caracteres biométricos de frutos e sementes, parâmetros da qualidade fisiológica de sementes e por marcadores moleculares AFLP entre matrizes de *Guazuma ulmifolia*, com propósito de subsidiar trabalhos de marcação de matrizes para coleta de sementes, programas de restauração ecológica, conservação e melhoramento genético da espécie.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Guazuma ulmifolia* Lam.

Guazuma ulmifolia Lam. pertence à família Sterculiaceae e ocorre em praticamente todo o país, desde a Amazônia até o Paraná, principalmente na floresta latifoliada semidecídua, ocorrendo também em grande parte da América Latina. É uma espécie comumente encontrada no cerrado brasileiro, sendo popularmente conhecida como mutamba, mutambo, fruta-de-macaco, embira, embireira e mutamba-verdadeira (LORENZI, 2002).

Apresenta altura entre 8 e 16 m e tronco entre 30 e 50 cm de diâmetro, sendo uma espécie arbórea de porte médio (BARBOSA & MACEDO, 1993). É uma espécie pertencente aos estágios iniciais de sucessão secundária, sendo considerada como espécie pioneira na regeneração de áreas (PAIVA SOBRINHO & SIQUEIRA, 2008) e também como secundária inicial (FERRETI et al., 1995; TRAPE & OLIVEIRA, 1995).

A madeira apresenta coloração castanho-clara, com densidade regular e tecido compacto, pouco resistente, sendo utilizada em caixotaria, marcenaria, fabricação de carroceria, confecção de tonéis e coronhas de armas. Além de fornecer material para a fabricação de cordas, as folhas podem ser utilizadas na alimentação de animais domésticos e os frutos são apreciados por macacos e outros animais (LORENZI, 2002; BARBOSA & MACEDO, 1993).

É uma espécie calcífila característica (RATTER et al., 1978) e indicadora de solos mesotróficos (CARVALHO et al., 1999). Há associação simbiótica com incidência média de micorriza arbuscular. Contudo, é espécie altamente dependente dos fungos micorrízicos arbusculares (NISIZAKI & ZANGARO FILHO, 1996).

O fruto é uma cápsula subglobosa septicida, seca, verrucosa, verde a negra, dura, de 1,5 cm a 3,5 cm de comprimento, abrindo-se em cinco segmentos que se fendem no ápice ou irregularmente por poros (PAIVA & GARCIA, 1999). Apresenta folhas oblíquas irregulares, geralmente cordadas dentadas, pilosas na parte superior e levemente branco tomentosas na parte inferior (LITTLE & WADSWORT, 1969).

A floração acontece de setembro a dezembro, no Estado de São Paulo e em Minas Gerais (BRANDÃO & GAVILANES, 1990; BRINA, 1998) e a maturação dos frutos ocorre de junho a novembro (BARROSO et al., 1993; BRINA, 1998), entretanto permanecem na árvore por mais algum tempo. É freqüente observar flores, frutos imaturos e frutos maduros na mesma árvore (CARVALHO, 2007).

É uma espécie monóica, tendo como vetores de polinização essencialmente abelhas (MORELLATO, 1991; DEUS et al., 1993) e diversos insetos pequenos (KUHLMANN & KUHN, 1947). A dispersão dos frutos e sementes é essencialmente zoocórica (BRINA, 1998), principalmente aves e peixes. Também são dispersadas por mamíferos, incluindo-se o gado e, possivelmente cavalos e outros animais (LOPEZ et al., 1987).

As sementes possuem duas camadas bem distintas, evidenciando a testa e o tegma, sendo classificadas como bitégmicas, e quanto à sua constituição química são classificadas como amiláceas. A germinação das sementes é do tipo epígea, e as plântulas são fanerocotiledonares (ARAÚJO NETO, 1997). O número de sementes por quilo pode variar em torno de 159 mil (SANTOS, 1979) a 225 mil (CATIE, 1986).

As sementes de mutamba são classificadas como ortodoxas com relação ao armazenamento (CARVALHO, 2000). A viabilidade germinativa das sementes dessa espécie em armazenamento dura mais de 90 dias. Sementes armazenadas em câmara fria (5 ºC) mantêm o poder germinativo por pelo menos seis meses (DURIGAN et al., 1997). FERRETTI et al. (1995) verificaram a germinação em sementes armazenadas por períodos de até 1 ano.

Um dos maiores usos potenciais para essa espécie é em consórcios agrissilvipastoris (CATIE, 1986). Em Porto Rico, a mutamba é utilizada para arborização de pastos. O gado vacum e cabalar comem os frutos novos e a folhagem, especialmente em períodos de seca. Na Bolívia, a mutamba é recomendada para cortinas de uma só fileira e para fileiras laterais das cortinas quebra-ventos naturais (JOHNSON & TARIMA, 1995). Devido ao fato das flores de mutamba serem melíferas, produzindo boa quantidade de néctar (RAMOS et al., 1991), outra grande

potencialidade da espécie é a apicultura, sendo fonte de mel saboroso, muito agradável e de alta qualidade (CARVALHO, 2007).

Na região canavieira do Ceará, o extrato mucilaginoso da mutamba obtido por cozimento de pedaços de seu caule é amplamente utilizado na fabricação artesanal de rapadura, como agente de clarificação do caldo da cana durante a fervura (LORENZI & MATOS, 2002). Em Barão de Melgaço, MT, quando secos, os frutos, são utilizados no preparo de chás, sendo considerado um ótimo substituto do chá-mate (GUARIM NETO, 1984).

No México, esta planta tem uma longa história de uso indígena, sendo o chá da casca empregado para facilitar o parto, para aliviar as dores gastrintestinais, para tratar asma, febre, diarréia e disenteria. Como indicações fitoterápicas, destacam-se: cicatrizante de feridas e de úlceras; desobstruente do fígado; no tratamento de dermatoses, da sífilis, da bronquite, da asma, da tosse, da pneumonia e de outras afecções do aparelho respiratório (TESKE & TRENTINI, 1997). Pesquisas recentes vêm sendo realizadas com o intuito de se conhecer melhor as propriedades farmacêuticas e medicinais da mutamba (FERNANDES et al., 2005; GALINA et al., 2005; BERENGUER et al., 2007; MAGOS et al. 2008; LOPES et al. 2009).

Visando a conservação de recursos genéticos e um futuro programa de melhoramento da espécie, BORGES et al. (1995) selecionaram inicialmente 200 árvores candidatas e, após as avaliações necessárias, escolheram 60 árvores superiores, numa área total de 60 ha de plantio, com uma intensidade média de seleção de 1:500. A superioridade média das árvores selecionadas para a altura foi de 30,85%, com amplitude de 23,93% a 51,18% e para diâmetro de copa foi 21,90% com amplitude de 0 a 56,28%, mostrando boas perspectivas de ganhos de seleção, justificando assim o programa de melhoramento de *Guazuma ulmifolia*.

2.2. Biometria de Frutos e Sementes

Os dados biométricos de frutos e sementes possuem extremo valor ecológico, auxiliando na determinação da variabilidade da espécie, bem como no estudo do tipo de

dispersão e dos agentes dispersores (MARTINS & OLIVEIRA, 2001). O tamanho e o peso dos frutos e sementes, bem como o número de sementes por fruto são característicos de cada espécie, existindo forte influência ambiental sobre os mesmos (ALVES et al., 2005; PAULA, 2007).

Os estudos biométricos auxiliam a determinação dos diferentes parâmetros fenotípicos entre os indivíduos de uma população, visto que, nas espécies arbóreas tropicais existe grande variabilidade com relação aos caracteres morfológicos (CRUZ & CARVALHO, 2003; MELO et al., 2004). Dessa forma, é de grande importância o conhecimento do tipo e tamanho de frutos e sementes para esses estudos (CRUZ et al. 2001). Entretanto, poucos são os trabalhos que objetivam a caracterização de frutos e sementes dessas espécies visando ampliar o conhecimento sobre as mesmas (EDWARDS, 2000).

A caracterização biométrica de frutos e sementes tem sido importante para a diferenciação de espécies do mesmo gênero (CRUZ et al., 2001), para subsidiar a classificação de grupos ecológicos (BASKIN & BASKIN, 1998; CASTELLANI, 2003), para a caracterização de germoplasma (ALVES et al., 2003), entre outras diversas áreas de estudo.

Dentro da mesma espécie, existem variações individuais devidas às influências de fatores bióticos e abióticos, durante o desenvolvimento das sementes e à variabilidade genética. Assim, o tamanho e o peso da semente podem variar entre plantas da mesma espécie, de ano para ano e, também, dentro de uma mesma planta (PIÑA-RODRIGUES & AGUIAR, 1993). A variação entre indivíduos, numa mesma população, possibilita a seleção com vistas à melhoria de um dado caráter, constituindo-se numa das mais importantes fontes de variabilidade disponíveis para os melhoristas de plantas (PAULA, 2007)

Normalmente, os caracteres associados aos órgãos reprodutivos das plantas apresentam uma maior estabilidade do que os caracteres vegetativos. Isto pode ser explicado pelo maior controle genético e pela pressão de seleção exercidos sobre os caracteres reprodutivos, no processo de evolução (ALVES, 2002).

A compreensão da ecologia tropical ligada à realização de estudos que possam permitir uma precisa identificação das espécies vegetais, a partir de suas fases juvenis, enfatizando seus frutos, sementes e plântulas, podem ser precursores de um bom manejo e conservação para algumas espécies arbóreas, contribuindo assim, na reconstituição de florestas tropicais (OLIVEIRA, 1997; MOREIRA CONEGLIAN & OLIVEIRA, 2006).

O crescente uso das espécies florestais torna indispensáveis esses estudos, visando sua propagação e preservação (MELO & VARELA, 2006). Em virtude disso, o estudo desses caracteres é importante e contribui para o entendimento da sucessão e regeneração dos ecossistemas naturais (DONADIO & DEMATÊ, 2000; ARAÚJO NETO et al., 2002; MELO & VARELA, 2006) e ainda pode contribuir na análise dos mecanismos de dispersão das espécies arbóreas florestais (MELO et al., 2004).

Estudos de variabilidade e ou de divergência genética por caracteres biométricos de frutos e sementes, entre outros, são bastante comuns em espécies com longa história de melhoramento e domesticação (RIBEIRO & STORCK, 2002; BARBIEIRI et al., 2005; KARASAWA et al., 2005; SUDRÉ et al., 2005) e outras em estádios considerados selvagens ou em início de domesticação (SANO et al., 1999; BOTEZELLI et al., 2000; TELLES et al., 2001; FARIAS NETO & OLIVEIRA, 2002; ARRIEL et al., 2004; ARRIEL et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2006). Ainda assim, existe uma carência de estudos sobre morfometria de frutos e sementes de espécies florestais tanto nativas como exóticas (ARAÚJO et al., 2004).

2.3. Qualidade Fisiológica de Sementes

A qualidade fisiológica da semente é definida por duas características fundamentais: germinação e vigor. Tais características representam diferentes atributos da semente. A germinação, avaliada pelo teste de germinação, procura determinar o máximo potencial germinativo de um lote de sementes e proporciona para tanto, condições julgadas as mais favoráveis possíveis (FONSECA, 2007). Portanto, alta germinação constatada em laboratório não é garantia de alta emergência das plântulas

em campo. Dessa forma, o teste de germinação não avalia, freqüentemente, o potencial fisiológico das sementes para um bom desempenho em campo; avaliações consideradas mais consistentes com esta finalidade são realizadas por testes de vigor. O vigor expressa atributos mais sutis da qualidade fisiológica, não revelados pelo teste de germinação, e é determinado sob condições desfavoráveis ou medindo-se o declínio de alguma função bioquímica ou fisiológica (MARCOS FILHO et al., 1987).

A viabilidade, determinada pelo teste de germinação, procura avaliar a máxima germinação da semente. Enquanto, o vigor compreende um conjunto de características que determinam o potencial fisiológico das sementes, sendo influenciado pelas condições de ambiente e manejo durante as etapas de pré e pós-colheita (VIEIRA & CARVALHO, 1994).

O termo germinação pode ser conceituado de diferentes maneiras, em função do campo de investigação. Segundo LABOURIAU (1983), do ponto de vista botânico a germinação é um processo biológico constituído pela retomada do crescimento do embrião, com o conseqüente rompimento do tegumento pela radícula. Para os tecnologistas de semente, a germinação é reconhecida como a produção de plântulas normais (BRASIL, 1992). Já sob o ponto de vista fisiológico, germinar é sair do repouso e entrar em atividade metabólica (BORGES & RENA, 1993).

O teste de germinação determina, numa amostra, a proporção de sementes vivas e capazes de produzir plantas normais sob condições favoráveis. Este teste foi desenvolvido e aperfeiçoado para avaliar o valor das sementes para o plantio, bem como para comparar diferentes lotes, servindo assim como base para o comércio de sementes. Este teste é conduzido oferecendo às sementes as condições mais favoráveis, tais como luz, substrato mais adequado, temperatura, umidade e aeração (FIGLIOLIA et al, 1993).

O vigor de sementes pode ser entendido como o nível de energia que uma semente dispõe para realizar as tarefas do processo germinativo (CARVALHO, 1986). Contudo, a definição do que seja o vigor de sementes não é tarefa fácil e as duas principais associações que congregam tecnologistas de sementes (ISTA - International Seed Testing Association - e AOSA - Association of Official Seed Analysts) têm, cada

uma, a sua definição. Assim, de acordo com a AOSA (1983), vigor de sementes "compreende aquelas propriedades que determinam o potencial para uma emergência rápida e uniforme e para o desenvolvimento de plântulas normais sob ampla faixa de condições ambientais" e, pela ISTA (HAMPTON & TEKRONY, 1995), o vigor de sementes "é a soma das propriedades que determinam o nível potencial de atividade e desempenho de uma semente ou de um lote de sementes durante a germinação e a emergência da plântula".

Como um único teste não consegue avaliar, de forma simultânea e satisfatória, todos os aspectos de vigor que podem afetar o estabelecimento das plântulas em campo, vários testes têm sido propostos, uma vez que a deterioração de sementes e a conseqüente queda de vigor se manifestam de diferentes formas (MARCHI & CICERO, 2002).

Como características adequadas de um teste de vigor, eles devem ser rápidos, de fácil execução, não exigirem equipamentos complexos, sendo também de baixo custo e igualmente aplicáveis para determinar o vigor de uma semente ou de um lote delas, além de apresentarem eficiência para detectar tanto pequenas como grandes diferenças de vigor (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000; MARCOS FILHO, 2005). Entre os testes considerados como mais convenientes para a avaliação do vigor das sementes estão o envelhecimento acelerado e a condutividade elétrica (MARCOS FILHO, 1999b).

O teste de condutividade elétrica avalia, indiretamente, o grau de estruturação das membranas celulares, através da determinação da quantidade de lixiviados em uma solução de embebição, a qual é inversamente relacionada à integridade das membranas celulares. As sementes são embebidas em determinado volume de água, sob temperatura controlada, durante período pré-estabelecido. Em conseqüência da menor estruturação e seletividade das membranas, sementes de menor potencial fisiológico liberam maior quantidade de lixiviados, resultando em maior valor de leitura de condutividade elétrica (VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999; MARCOS FILHO, 2005).

Desse modo pode-se associar que uma forte concentração iônica nos lixiviados representa a presença de membranas deterioradas e, por conseguinte, sementes de

baixa qualidade. Por outro lado, a detecção de um baixo nível de eletrólitos nos lixiviados, automaticamente, leva a supor uma boa integridade destas membranas, como indicativo de uma boa conservação de vigor e capacidade germinativa (SAMPAIO et al., 1995). Isso é devido à grande capacidade de reorganização das membranas celulares e de reparação de certos níveis de danos que é maior para sementes de mais alto vigor (VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999).

Muitos fatores, alguns diretamente relacionados às sementes e outros à própria metodologia empregada, podem interferir nos resultados do teste de condutividade elétrica. Entre aqueles relacionados às sementes pode-se citar a presença e ocorrência de danos mecânicos durante a colheita, extração e, ou beneficiamento das sementes, o tamanho de sementes, as diferenças entre genótipos e teor de água das sementes (VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999). Entre os fatores relativos à metodologia de condução do teste, o volume de água usado para embebição das sementes, o número de sementes por amostra, o tempo e a temperatura de embebição são dos mais importantes.

Outro teste de vigor, amplamente usado em sementes agrícolas, é o teste de envelhecimento acelerado, também denominado de envelhecimento precoce ou, ainda, de envelhecimento artificial. Inicialmente desenvolvido com a finalidade de estimar o potencial relativo de armazenamento de sementes de trevo e festuca, esse teste tem sido intensivamente estudado com vistas à sua padronização. O princípio do teste de envelhecimento acelerado baseia-se no aumento da taxa de deterioração das sementes, pela sua exposição a níveis elevados de temperatura e umidade relativa do ar, considerado os fatores ambientais de maior influência na intensidade e velocidade de deterioração (MARCOS FILHO et al., 1987; MARCOS FILHO, 1999a; MARCOS FILHO, 2005).

Segundo TORRES & MARCOS FILHO (2001) e RAMOS et. al (2004) as sementes consideradas vigorosas se deterioram mais lentamente após serem submetidas ao envelhecimento acelerado e, portanto, podem tolerar estresse mais acentuado e suportar melhor as condições em campo ou armazenamento. MARCOS

FILHO (2005) comenta que o teste de envelhecimento acelerado é um dos mais sensíveis e eficientes para a avaliação do vigor de sementes de diversas espécies.

Dentre os fatores que afetam o comportamento das sementes durante o teste de envelhecimento acelerado, pode-se citar a temperatura e o período de exposição das sementes, o teor de água das sementes, a abertura da câmara durante a condução do teste, o genótipo, dentre outros (MARCOS FILHO, 1999a). Quanto à temperatura e ao período de exposição, tem-se verificado que aumento na primeira promove efeitos mais drásticos sobre a germinação que o prolongamento do período de envelhecimento e, quanto ao teor de água, sementes mais úmidas são, em geral, mais sensíveis às condições do teste (MARCOS FILHO, 2005).

A avaliação da qualidade fisiológica de sementes florestais é realizada, geralmente, por meio de testes de germinação. Destes testes podem ser obtidas várias informações como a porcentagem e a velocidade de germinação, a uniformidade da germinação e aspectos relativos ao desenvolvimento (comprimento e massa de matéria seca) de plântulas. Não obstante o teste de germinação possibilitar o provimento destas e outras informações, o comum é serem avaliadas apenas a porcentagem e a velocidade de germinação, de forma que, na maioria das vezes, este teste é subutilizado nas pesquisas com sementes florestais (PAULA, 2007).

De acordo com VALENTINI & PIÑA-RODRIGUES (1995), a aplicação dos testes de vigor em sementes de espécies florestais é uma prática que permite estimar e comparar lotes de sementes para diferentes objetivos. A simplicidade, inerente a vários destes testes, aliada aos bons resultados, tornam-os de utilização promissora em vários campos de pesquisa. Comparações de vigor de sementes entre matrizes, progênies e procedências, oferecem ao pesquisador dados adicionais em uma fase inicial de um programa de melhoramento ou conservação genética.

Porém, a aplicação destes testes, possibilitando a avaliação precisa da qualidade fisiológica de lotes de sementes de espécies florestais, deve ser melhor avaliada devido a grande variabilidade genética que estas espécies apresentam. Isto se torna mais restritivo quando o interesse é comparar lotes provenientes de localidades diferentes,

em que a variação ambiental passa a ter influência marcante na variabilidade das características físico-químicas das sementes (BONNER,1998).

À exceção dos testes que são conduzidos juntamente com o teste de germinação, poucos são os testes de vigor com metodologia definida para as sementes florestais. Acredita-se que a diversidade das espécies florestais e das condições ambientais de produção de sementes destas espécies, bem como a alta variabilidade existente numa mesma espécie quanto aos vários caracteres de frutos e sementes, sejam os principais fatores que dificultam a padronização destes testes na área florestal, principalmente para as espécies com baixo grau de domesticação e melhoramento (PAULA, 2007).

2.4. Marcadores Moleculares AFLP

A expressão da variabilidade genética ocorre de forma diferenciada nas diversas etapas de crescimento de uma espécie. A sua identificação ao nível do fenótipo tem sido uma tarefa difícil tendo em vista a complexidade da expressão gênica e a influência dos fatores ambientais (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998). Segundo estes autores, por marcadores moleculares define-se todo e qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso, ou de um segmento específico de DNA (correspondente a regiões expressas ou não do genoma).

Inicialmente, a utilização de enzimas de restrição permitiu a análise de comprimento de fragmentos de restrição de DNA (“Restriction Fragment Length Polymorphism” - RFLP) (GRODZICKER et al., 1974). Mais recentemente, o desenvolvimento do processo de amplificação em cadeia utilizando uma DNA polimerase (PCR) (MULLIS & FALOONA, 1987; SAIKI et al., 1988) levou à descrição de outras classes de marcadores moleculares

Os distintos tipos de marcadores moleculares hoje disponíveis diferenciam-se pela tecnologia utilizada para revelar variabilidade existente ao longo da molécula de DNA, e assim variam quanto à habilidade de detectar diferenças entre indivíduos, ao

custo, à facilidade de uso, à consistência e repetibilidade dos resultados (MILACH, 1998).

Dentre os marcadores moleculares de DNA mais utilizados, pode-se destacar o polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição (RFLP), polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (RAPD), polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados (AFLP), e microssatélites (SSR) (KARP et al., 1996; FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998; MELO et al., 2001).

Os marcadores AFLP (Amplified Fragment Lenght Polimorfism) se baseiam na amplificação seletiva, via PCR, de fragmentos de DNA genômico total gerados pela clivagem com enzimas de restrição (VOS et al., 1995; LIU, 1998).

A análise de AFLP consiste basicamente em quatro etapas. Na primeira etapa, o DNA genômico total do indivíduo é clivado com duas enzimas de restrição. Na segunda, adaptadores específicos são ligados aos terminais dos fragmentos genômicos gerados pela clivagem. Na terceira etapa, uma fração dos fragmentos gerados é amplificada seletivamente via PCR, utilizando “primers” especificamente desenhados para reconhecer sequências nos adaptadores. Na quarta e última etapa, a subpopulação de fragmentos amplificados é separada em gel de alta resolução (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998; LIU, 1998; RAMALHO et al., 2000).

A vantagem que mais destaca esta tecnologia das demais é o grande número de fragmentos que são gerados e resolvidos num único gel. O índice de “multiplex” do ensaio AFLP, ou seja, o número de marcadores simultaneamente analisados em um único gel é um dos mais altos entre as tecnologias disponíveis. A técnica de AFLP é, portanto, muito eficiente na amostragem ampla e simultânea de um genoma. A segunda vantagem é o grande poder de detecção de variabilidade genética, que explora simultaneamente o polimorfismo de presença e ausência de sítios de restrição, e a ocorrência ou não de amplificação a partir de sequências arbitrárias (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998; RAMALHO et al., 2000).

Entretanto, a principal limitação dos marcadores AFLP é o baixo conteúdo de informação genética por loco, pois são de natureza dominante. Além disso, a análise AFLP envolve um maior número de etapas, necessitando de maior quantidade de

reagentes e equipamentos, incrementando o custo das análises (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998; HOEZEL & GREEN, 1998; ZHIVOTOVSKY, 1999; COSTA et al., 2000).

Marcadores AFLP vêm sendo empregados com o propósito de caracterizar variabilidade e divergência genética (GANGA et al., 2004; FREITAS et al., 2005). Pode-se citar a *Moringa oleifera*, uma espécie arbórea com várias aplicações, onde estes marcadores têm revelado diferenças significativas entre as regiões de procedência (MULUVI et al., 1999). Outro exemplo é a reconstrução de bosques na Europa com a espécie *Quercus petraea*, utilizando progênies de indivíduos selecionados, com a finalidade de estabelecer a máxima variabilidade para fins de conservação (GREEF et al., 1998).

2.5. Divergência Genética

A variabilidade genética é considerada como sendo a capacidade de uma espécie, de uma população ou de uma progênie para expressar diferentes fenótipos (RAMALHO et al., 2000), enquanto a divergência genética pode ser medida entre indivíduos, progênies, populações, espécies, cultivares ou qualquer outro tipo de unidade amostral e corresponde a diferenças nas freqüências alélicas entre as unidades consideradas. Assim, a variabilidade está diretamente relacionada com a divergência genética, uma vez que a amplitude da variabilidade em uma população segregante é função da divergência genética entre os pais envolvidos (FALCONER, 1987).

Estudos de divergência genética são, ainda, extremamente importantes no contexto de trabalhos de conservação genética e manutenção de bancos de germoplasma (PAULA, 2007). A identificação de acessos semelhantes em populações naturais e, ou bancos de germoplasma, por meio da identificação da divergência, direcionam trabalhos de coleta de sementes e descarte de materiais redundantes (MARTINELLO et al., 2002; PEREIRA et al., 2003).

Há duas maneiras básicas para se inferir a diversidade genética: uma de natureza quantitativa e outra preditiva (CRUZ & CARNEIRO, 2003).

Dentre os métodos preditivos utilizados no estudo da divergência genética, estão às análises multivariadas baseadas em caracteres fenotípicos. Algumas vantagens vêm sendo apontadas na utilização desses métodos. Técnicas de análises multivariadas têm-se constituído em ferramenta de grande utilidade em estudos genéticos, por considerar simultaneamente um conjunto de caracteres de interesse. (CRUZ, 2001a; FONSECA et al., 2006). Na predição da divergência genética, vários métodos podem ser aplicados, sendo a escolha do método mais adequado determinada pela precisão desejada pelo pesquisador, pela facilidade da análise e pela forma como os dados foram obtidos (CRUZ et al., 2004).

Os métodos multivariados empregados com freqüência na visualização e interpretação da diversidade em plantas perenes têm sido: análises de componentes principais, análises de agrupamentos e variáveis canônicas (ALVES, 2002; ARAÚJO et al., 2002; BARROS, 1991; DIAS, 1994; DIAS et al., 1997; MARTEL et al., 2003; MOURA, 2003; SOUSA, 2003).

As técnicas de agrupamento dependem de uma medida de dissimilaridade que, para variáveis quantitativas, geralmente usa-se a distancia euclidiana ou a de Mahalanobis (CRUZ & CARNEIRO, 2003; CRUZ et al., 2004). Para DIAS (1994), a matriz de dissimilaridade de dados biométricos construída com medidas de distâncias de Mahalanobis, apresenta uma boa precisão. Para dados moleculares, onde se obtém uma matriz composta por dados binários, representados pelos números 0 (ausência) e 1 (presença de bandas), aplicam-se vários índices de similaridades que variam de 0 a 1, sendo as dissimilaridades obtidas de seus complementos (CRUZ & CARNEIRO, 2003; CRUZ et al., 2004).

A matriz de dissimilaridade para dados moleculares dicotômicos, que envolve a presença (1) e ausência (0) de bandas, é obtida por meio do complemento aritmético de um índice de similaridade ($dg_{ij} = 1 - sg_{ij}$). A similaridade (sg_{ij}) é uma medida estabelecida entre um genótipo (g_i) e outro (g_j), sendo expressa em valores que variam entre 0 e 1 (CRUZ & CARNEIRO, 2003).

Há vários coeficientes de similaridades que se diferenciam por considerar ou não a ocorrência das quatro possíveis observações da banda no gel, sendo elas: 1) a=11, presença no par de genótipos, 2) b=10, presença no genótipo *i* e ausência em *j*, 3) c=01, ausência no genótipo *i* e presença em *j*, e 4) d=00, ausência no par de genótipos (DIAS, 1994; CRUZ & CARNEIRO, 2003).

As propriedades matemáticas e genéticas dos coeficientes de dissimilaridades, obtidos de freqüências alélicas, e dos de similaridades, gerados de dados binários, empregados em marcadores moleculares, foram amplamente discutidas por REIF et al. (2005). Segundo esses autores, quando os dados são obtidos por marcadores que geram alelos não informativos ou são organizados em uma matriz binária, eles permitem a análise apenas pelo uso de coeficientes de similaridade. Destacam ainda alguns deles como mais importantes, tais como o de coincidência simples, o de Jaccard e o de Nei e Li, sendo que os dois últimos não contabilizam valores nulos (00).

A análise de agrupamento tem por objetivo reunir diversos acessos (populações, clones, procedências, progênies, etc.) com o uso de medidas de dissimilaridades (CRUZ & CARNEIRO, 2003). Então, é necessário estimar uma matriz de dissimilaridade e, com base nesta matriz, identificar os grupos similares. Para DIAS (1994), a principal utilidade dessa técnica ocorre quando se emprega em um grande conjunto de dados, transformando-o em pequenos subconjuntos de mais fácil interpretação e manipulação.

Os métodos de agrupamentos classificam-se em dois tipos: hierárquicos e não hierárquicos. A diferença entre eles está no fato do primeiro envolver a construção de dendrograma. Nos hierárquicos, o agrupamento é realizado em n genótipos aos pares com n(n-1)/2 combinações possíveis, porém, se o número de genótipos for grande, a identificação de grupos homogêneos apenas pela visualização da matriz é quase impraticável (CRUZ & CARNEIRO, 2003).

Os hierárquicos se dividem em divisivos e aglomerativos. Nos aglomerativos, os genótipos mais similares são agrupados primeiro e, a partir deles, novos grupos são formados, de acordo com suas similaridades. CRUZ & CARNEIRO (2003) descrevem vários tipos de agrupamentos hierárquicos aglomerativos, podendo-se destacar o método UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages), que

permite a construção de um diagrama de árvore denominado de dendrograma. Nele identificam-se os grupos homogêneos e a delimitação desses grupos ocorre nos pontos de alta mudança de nível. Dentro do não hierárquico, tem-se o método de otimização, desenvolvido por Tocher (RAO, 1952), o qual estabelece grupos cujas médias das distâncias intragrupos são sempre menores que as distâncias médias intergrupos, formando, assim, grupos homogêneos mutuamente exclusivos entre si (DIAS, 1994; PEREIRA, 1989).

Os métodos hierárquicos aglomerativos, especialmente o UPGMA, são os mais usados na visualização e interpretação da diversidade genética de germoplasma conservados em coleções e obtidos por dados moleculares, independentemente do tipo de marcador (N'GORAN et al., 1994; SOUSA et al., 2001; ALVES, 2002; MOURA, 2003; SOUSA, 2003). No caso da interpretação da diversidade fenotípica, é comum o uso dos dois métodos de agrupamento, sendo o descritor de natureza diferente ou não, como também com ou sem descarte (PEREIRA, 1989; DIAS, 1994; DIAS et al., 1997; MOURA, 2003; SOUSA, 2003).

O estudo da diversidade genética na área florestal, além dos objetivos já mencionados possibilita o conhecimento da base genética da população, além de proporcionar o descarte de genótipos similares, possibilitando economia de tempo, mão-de-obra e recursos financeiros (MOURA et al., 1999; ARRIEL et al., 2004) na condução dos programas de melhoramento, de conservação genética e de manutenção de bancos de germoplasma (PAULA, 2007).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram usados frutos e sementes provenientes de 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam. (mutamba), Sterculiaceae, localizadas na área urbana e rural do município de Jaboticabal, SP. Foram amostradas matrizes com boa produção de sementes e bom aspecto fitossanitário. As matrizes foram georreferenciadas com a utilização de um aparelho de GPS marca Garmin, modelo eTrex Vista e com o auxílio do software GPS TrackMaker-Pro (Tabela 1). A localização das matrizes está representada nas Figuras de 1 a 7.

Os frutos foram colhidos diretamente da árvore no mês de novembro de 2008, quando apresentavam indícios de maturação (coloração marrom a preta com início de abertura espontânea), com auxílio de um podão, sendo acondicionados em sacos de plástico preto, devidamente individualizados e identificados por matriz, e transportados para o Laboratório de Sementes e Melhoramento Florestal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista (FCAV-UNESP), *Campus* de Jaboticabal. De parte dos frutos foram extraídas as sementes (Figura 8), com auxílio de alicate e pinças, as quais foram destinadas para as avaliações biométricas e para os testes de germinação e vigor.

3.1. Avaliação Biométrica de Frutos e Sementes

Foram determinados o comprimento, o diâmetro e a massa de matéria fresca de frutos, em quatro repetições de 5 unidades por matriz, e a massa de matéria fresca de sementes, em quatro repetições de 100 unidades por matriz. O comprimento e o diâmetro dos frutos foram determinados com o uso de um paquímetro digital, com precisão de 0,01 mm e a massa de matéria fresca de frutos e sementes com uma balança digital, com precisão de 0,001 g.

Estes dados foram submetidos à análise de variância, considerando-se o modelo inteiramente ao acaso, com 41 tratamentos (matrizes) e quatro repetições (de 5 frutos

Tabela 1. Altitudes e coordenadas geográficas das 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam. amostradas, localizadas no município de Jaboticabal, SP.

Matriz	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)
1	21º 14' 56''	48º 16' 35''	556,5
2	21º 14' 55''	48º 16' 34''	557,0
3	21º 14' 55''	48º 16' 34''	556,2
4	21º 14' 55''	48º 16' 33''	556,8
5	21º 14' 53''	48º 16' 32''	556,5
6	21º 14' 52''	48º 16' 32''	556,4
7	21º 14' 51''	48º 16' 26''	556,5
8	21º 14' 51''	48º 16' 25''	556,0
9	21º 14' 51''	48º 16' 25''	557,0
10	21º 14' 51''	48º 16' 25''	557,2
11	21º 14' 51''	48º 16' 24''	557,2
12	21º 14' 50''	48º 16' 24''	557,9
13	21º 14' 50''	48º 16' 23''	555,0
14	21º 14' 50''	48º 16' 22''	555,2
15	21º 14' 49''	48º 16' 18''	556,3
16	21º 14' 49''	48º 16' 18''	556,3
17	21º 14' 49''	48º 16' 17''	556,5
18	21º 14' 49''	48º 16' 16''	556,0
19	21º 14' 48''	48º 16' 15''	557,7
20	21º 15' 34''	48º 16' 55''	597,4
21	21º 15' 35''	48º 16' 54''	596,6
22	21º 14' 45''	48º 17' 13''	528,1
23	21º 15' 14''	48º 18' 22''	553,8
24	21º 15' 13''	48º 18' 20''	553,1
25	21º 15' 13''	48º 18' 20''	553,4
26	21º 15' 15''	48º 18' 11''	555,0
27	21º 15' 15''	48º 18' 11''	554,8
28	21º 15' 17''	48º 18' 06''	554,6
29	21º 15' 18''	48º 18' 04''	554,1
30	21º 15' 19''	48º 18' 02''	554,8
31	21º 15' 20''	48º 18' 02''	555,5
32	21º 16' 11''	48º 18' 14''	610,3
33	21º 16' 12''	48º 18' 14''	610,6
34	21º 16' 14''	48º 18' 11''	608,6
35	21º 16' 14''	48º 18' 11''	608,4
36	21º 16' 15''	48º 18' 09''	608,4
37	21º 14' 56''	48º 16' 34''	556,3
38	21º 14' 56''	48º 16' 33''	556,3
39	21º 14' 54''	48º 16' 32''	556,1
40	21º 14' 52''	48º 16' 28''	558,0
41	21º 14' 51''	48º 16' 26''	557,4

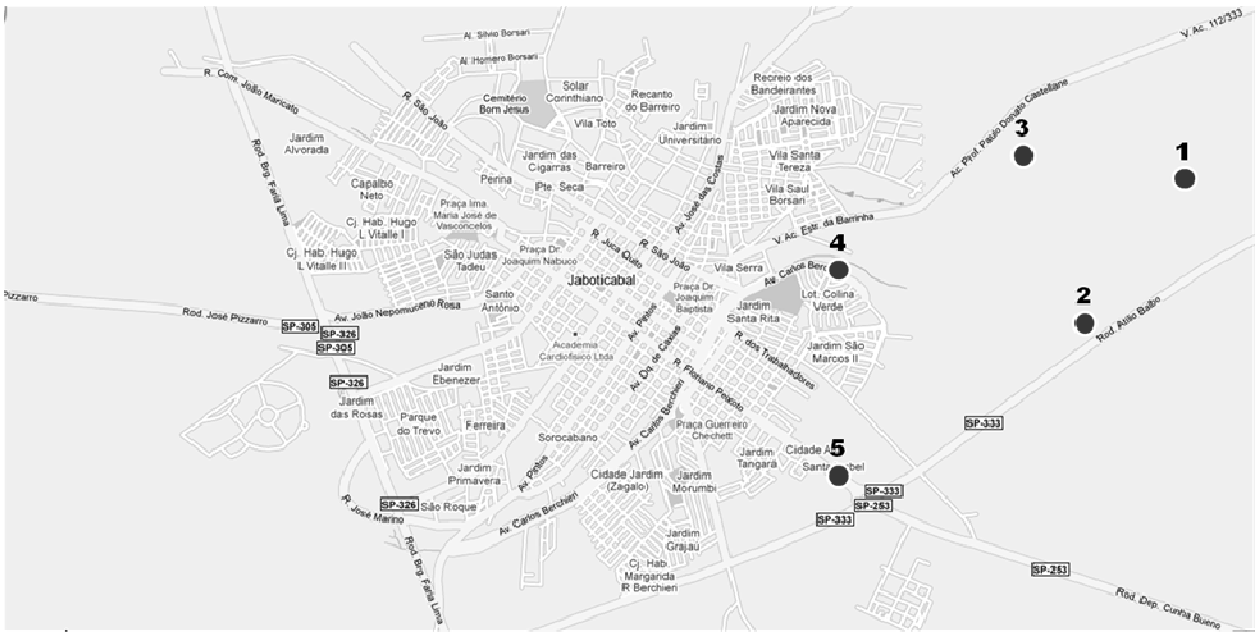

Figura 1. Mapa do município de Jaboticabal, SP, com os pontos de amostragem das 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam. (Imagem: Google Earth).
● pontos de amostragem

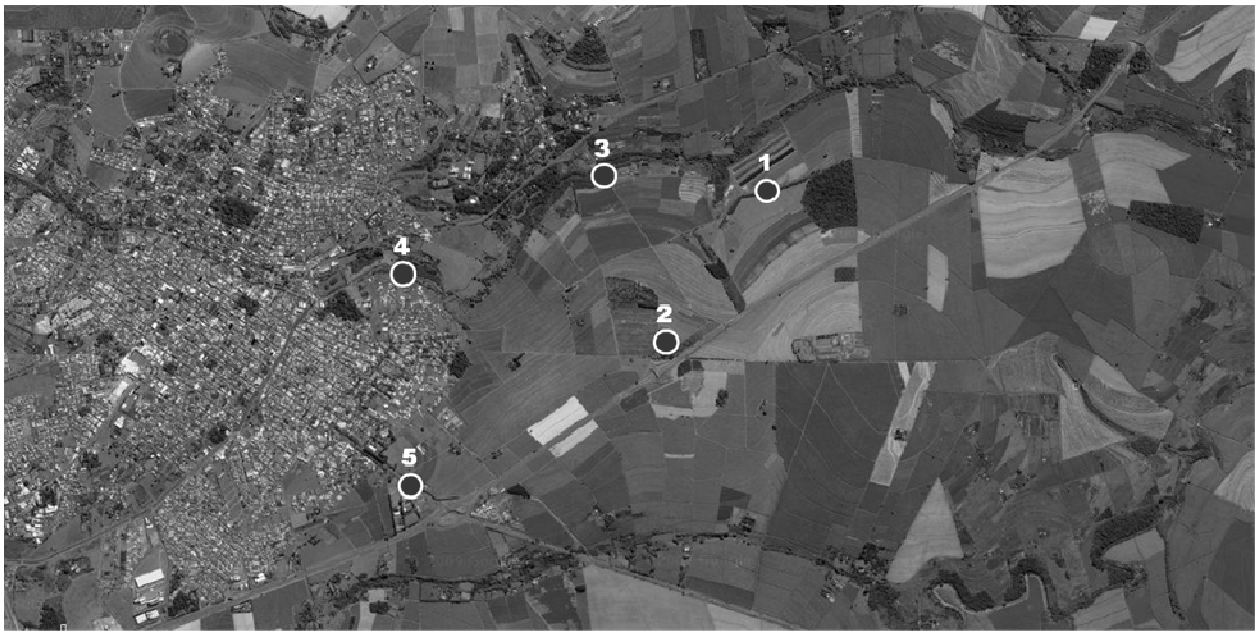

Figura 2. Imagem de satélite de parte do município de Jaboticabal, SP, com os pontos de amostragem das 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam. (Imagem: Google Earth).
● pontos de amostragem

Figura 3. Ponto 1: imagem de satélite das árvores matrizes de *Guazuma ulmiflolia* Lam. de número 1 a 19 e de número 37 a 41 (Imagem: Google Earth).

Figura 4. Ponto 2: imagem de satélite das árvores matrizes de *Guazuma ulmiflolia* Lam. de números 20 e 21 (Imagem: Google Earth).

Figura 5. Ponto 3: imagem de satélite da árvore matriz de *Guazuma ulmiflolia* Lam. de número 22 (Imagem: Google Earth).

Figura 6. Ponto 4: imagem de satélite das árvores matrizes de *Guazuma ulmiflolia* Lam. de número 23 a 31 (Imagem: Google Earth).

Figura 7. Ponto 5: imagem de satélite das árvores matrizes de *Guazuma ulmiflolia* Lam. de número 32 a 36 (Imagem: Google Earth).

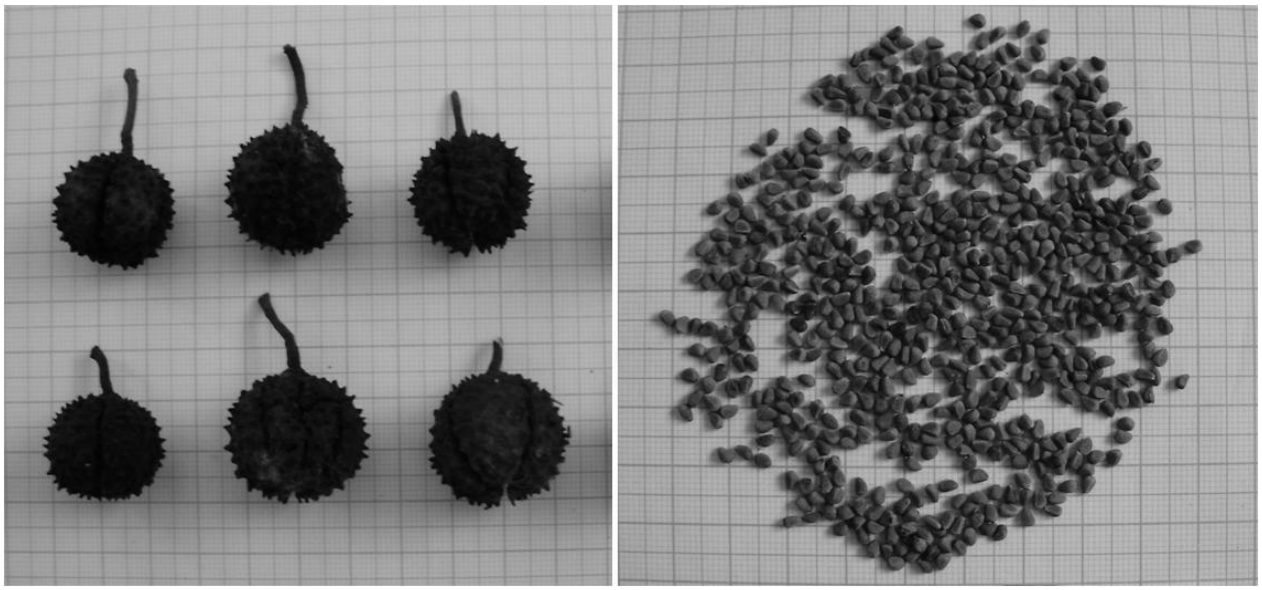

Figura 8. Imagem ilustrativa dos frutos e sementes de *Guazuma ulmifolia* Lam..

para biometria de frutos e 100 sementes para biometria de sementes). As médias entre matrizes foram discriminadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3.2. Tratamento Pré-germinativo das Sementes

Para a realização dos testes de germinação, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica, as sementes foram submetidas ao tratamento pré-germinativo de escarificação química com ácido sulfúrico 1 N, por 50 minutos, usando-se a relação volumétrica ácido:sementes 2:1, sendo em seguida lavadas em água corrente para neutralização e remoção de resíduos do mesmo (ARAÚJO NETO & AGUIAR, 2000).

3.3. Teste de Germinação

O teste de germinação foi realizado em caixas de germinação (“gerbox”), de plástico transparente e com tampa, de 10,5 x 10,5 x 3 cm de dimensões, usando como substrato duas folhas de papel mata-borrão, a 30 ºC, com fotoperíodo de 8 horas, com quatro repetições de 25 sementes por matriz (ARAÚJO NETO & AGUIAR, 2000). O substrato inicialmente foi umedecido com 15 mL de água destilada, o equivalente a três vezes a massa fresca do papel não hidratado, porém no decorrer do experimento houve necessidade de reumedecimento do mesmo.

O teste foi conduzido por 22 dias, avaliando-se diariamente o número de sementes com protrusão da radícula. Ao final do teste foram avaliadas as seguintes características: porcentagem de sementes com protrusão de radícula, índice de velocidade de germinação, obtido segundo MAGUIRE (1962), porcentagem de plântulas normais, ou seja, plântulas com as estruturas essenciais perfeitas, porcentagem de plântulas albinas, e comprimento e massa de matéria fresca e seca de plântulas normais.

O comprimento de plântulas foi avaliado com régua graduada em mm, e a massa de matéria fresca e seca determinada em balança de precisão (0,001 g). A massa de

matéria seca foi obtida após submeter as plântulas normais à secagem a 70 ºC por 48 horas, em estufa de circulação de ar.

Os dados foram submetidos à análise de variância, segundo o delineamento em blocos casualizados, com 41 tratamentos (matrizes) e quatro repetições (de 25 sementes). Os dados expressos em porcentagem foram submetidos ao teste de normalidade de Liliefors e quando detectada a não-normalidade procedeu-se a transformação dos mesmos em $\text{arcsen}(\sqrt{G/100})$, em que G refere-se à porcentagem de germinação, de plântulas normais ou plântulas albinas obtidas nos testes de germinação. As médias das matrizes foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3.4. Teste de Envelhecimento Acelerado

O teste de envelhecimento acelerado foi conduzido pelo método do “gerbox” (MARCOS FILHO, 1999b). Para tanto, uma camada uniforme de 100 sementes de cada matriz, foi disposta sobre uma tela de alumínio e inserida no “gerbox”. Abaixo desta tela foram adicionados 40 mL de água destilada. Os “gerboxes” foram tampados e conduzidos a um germinador vertical tipo B.O.D., regulado à temperatura de 45 ºC, e aí mantidos por 96 horas.

Ao final deste período, as sementes foram retiradas e foi montado o teste de germinação conforme procedimentos já descritos avaliando-se as mesmas características já citadas.

Assim como no teste de germinação, os dados foram submetidos à análise de variância, segundo o delineamento em blocos casualizados, com 41 tratamentos (matrizes) e quatro repetições (de 25 sementes). Os dados expressos em porcentagem foram submetidos ao teste de normalidade de Liliefors e quando detectada a não-normalidade procedeu-se a transformação dos mesmos em $\text{arcsen}(\sqrt{G/100})$, em que G refere-se à porcentagem de germinação, de plântulas normais ou plântulas albinas obtidas nos testes de germinação. As médias das matrizes foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3.5. Teste de Condutividade Elétrica

Para a realização desse teste, as sementes anteriormente submetidas ao tratamento pré-germinativo foram colocadas para secar sobre bancada de laboratório, durante um período de cinco dias, para entrarem em equilíbrio com o ambiente e atingirem teor de água semelhante entre as matrizes. Após esse período, foi determinado o teor de água das sementes a 105 $\pm$ 3 ºC, por 24 horas, conforme recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992), usando duas repetições de 0,1 g.

O teste de condutividade elétrica foi conduzido a 25 ºC, conforme recomendações básicas de VIEIRA & KRZYZANOWSKI (1999), com modificações. Foram usadas quatro repetições de 40 sementes, cuja massa de matéria fresca foi previamente determinada em balança de precisão (0,001 g), e após submetidas à embebição em 75 mL de água destilada (condutividade elétrica menor que 3 $\mu S.cm^{-1}$) por um período de 24 horas. A condutividade elétrica da solução de embebição das sementes foi determinada com um condutivímetro marca Marconi, modelo CA 150, com constante 1. Os resultados da leitura de condutividade elétrica da solução de embebição das sementes foram divididos pelos respectivos valores de massa de matéria fresca das sementes, expressando-se os resultados em $\mu S.cm^{-1}.g^{-1}$ de sementes.

Os dados foram submetidos à análise de variância, segundo o delineamento em blocos casualizados, com 41 tratamentos (matrizes) e quatro repetições (de 40 sementes). As médias das matrizes foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3.6. Correlação Entre Caracteres

Adicionalmente, foram estimados coeficientes de correlação de Pearson entre todas as características avaliadas na análise biométrica de frutos e sementes e nos

testes de germinação, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do aplicativo computacional GENES (CRUZ, 2001b).

3.7. Marcadores Moleculares AFLP

A análise das 41 matrizes utilizando marcadores moleculares AFLP foi realizada no Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Plantas Medicinais da Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP. A etapa de preparação do material vegetal para a extração do DNA constituiu-se em coleta de folhas jovens, sem manchas ou perfurações, as quais foram lavadas em água corrente e retiradas as nervuras, sempre individualizadas por matriz.

Extração do DNA vegetal: A extração de DNA total genômico dos tecidos vegetais foi realizada segundo técnica descrita por LODHI et al. (1994), com modificações, descrita a seguir: 0,1 g de folhas frescas de cada amostra foi macerado em nitrogênio líquido e homogeneizada em tubos de microcentrífuga de 2,0 mL, contendo 1,0 mL de Tampão de Extração (2% CTAB, 1,4 M NaCl, 0,2% 2-β-mercaptoetanol, 20 mM EDTA, 100 mM TRIS-HCl-pH 8,0,). Após 25 minutos de incubação a 60 ºC, foram adicionados 1,0 mL de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1), centrifugando por 15 minutos a 10000 rpm a 23 ºC. Em um novo tubo, o sobrenadante foi transferido, ao qual adicionou-se 500 µL de NaCl 5 M e 2 volumes de etanol (100%). Após incubação a - 80 ºC por 5 minutos, centrifugou-se à 6000 rpm por 5 minutos a 4 ºC e depois a 10000 rpm por 5 minutos a 4 ºC. Em seguida, o pellet formado foi lavado em 1,0 mL de etanol (70%), posto para secar, e ressuspendido em 100 µL de TE. Após o pellet ter dissolvido totalmente, tratou-se com 20 µL de RNAse, incubando a 37 ºC por 20 minutos.

A quantificação do DNA e sua qualidade foram realizadas com auxílio de espectrofotômetro, tendo-se medido a absorbância de cada amostra em contraste com uma amostra de água destilada livre de DNA nos comprimentos de onda de 260 e 280 nm (SAMBROOK et al., 1989).

Os marcadores moleculares AFLP foram utilizados para determinar a variabilidade genética seguindo o protocolo adaptado por VOS et al. (1995).

Digestão: O DNA genômico (200 ng) foi digerido conjuntamente com as enzimas de restrição EcoRI e MseI, em uma reação contendo 23,75 µL de água Milli-Q, 0,5 µL de Tampão 100X BSA, 5,0 µL de Tampão 10X OPA, 0,5 µL da enzima MseI (5 unidades) e 0,25 µL da enzima EcoRI (5 unidades). A reação de digestão foi incubada em termociclador modelo PTC™-100 (MJ Research Inc) e submetida a um ciclo de 37 °C por 15 horas; 70 °C por 15 minutos e 4 °C overnight.

Posteriormente, os fragmentos gerados foram ligados às seqüências adaptadoras específicas complementares às extremidades clivadas pelas duas enzimas.

Preparo dos Adaptadores: As sequências de adaptadores utilizadas para a ligação das enzimas foram:

Primer EcoRI-Forward: CTCGTAGACTGCGTACC

Primer EcoRI- Reverse: AATTGGTACGCAGTCTAC

Primer MseI-Forward: GACGATGAGTCCTGAG

Primer MseI-Reverse: TACTCAGGACTCAT

Para o preparo desses adaptadores, os mesmos foram submetidos, em termociclador, a um ciclo de 65 °C por 10 minutos; 37 °C por 10 minutos e 25 °C por 10 minutos, em reações descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Mix das reações para o preparo dos adaptadores para ligação das enzimas EcoRI e MseI.

Reagente	**MseI**	**EcoRI**
Oligo 1 (Forward)	64,0 µL (500ng/µL)	5,6 µL (600ng/µL)
Oligo 2 (Reverse)	56,0 µL (500ng/µL)	4,8 µL (620ng/µL)
Tampão 10X OPA	7,0 µL	6,0 µL
H_2O Milli-Q	13,0 µL	103,6 µL

Ligação dos Adaptadores: em cada amostra após a digestão, foram acrescentados 6,7 µL de água Milli-Q, 1,0 µL do adaptador para o corte da EcoRI, 1,0 µL do adaptador para o corte da MseI, 1,0 µL de tampão T4 DNA ligase e 0,3 µL da enzima T4 DNA ligase. As amostras foram incubadas em termociclador por 3 horas a 23 °C.

Após a incubação das amostras, estas foram visualizadas em gel de agarose (1%) para verificar a completa digestão e corte dos DNAs.

Amplificação Pré-Seletiva: O DNA clivado e ligado aos adaptadores (50 µl) foi pré-amplificado com iniciadores contendo uma base seletiva, Eco-A/MseI-T. Os produtos da PCR de pré-amplificação seletiva foram utilizados como molde na segunda reação, denominada amplificação seletiva, na qual foram utilizados iniciadores com 2 e 3 nucleotídeos seletivos adicionados à extremidade 3' dos iniciadores.

Para a reação de pré-amplificação, foi adicionado 0,5 µL EcoRI + 1 oligo (25 ng/µL), 0,5 µL MseI + 1 oligo (25 ng/µL), 0,4 µL dNTPs 2,5 mM, 1 µL 10X Buffer Mg Free (Promega), 0,6 µL $MgCl_2$ (25 mM), 0,5 µL Taq DNA polimerase (5 unidades/µL) (Promega) e 2,5 µL do DNA ligado. A pré-amplificação foi realizada de acordo com a seguinte programação: 94 °C por 2 minutos, 94 °C por 1 minuto, 56 °C por 1 minuto, 72 °C por 1 minuto, 25 vezes (94 ºC por 1 minuto, 56 °C por 1 minuto, 72 °C por 1 minuto), e 72 °C por 5 minutos. Os produtos da pré-amplificação foram diluídos 4 vezes e armazenados a - 20 °C.

Amplificação Seletiva: Na amplificação seletiva AFLP-PCR, foi adicionado 1,0 µL EcoRI + X oligo (25 ng/µL), 1,2 µL MseI + X oligo (25 ng/µL), 0,4 µL dNTPs 2,5 mM, 2,0 µL 10X Buffer Mg Free (Promega), 1,2 µL $MgCl_2$, (25 mM), 0,5µL Taq DNA polimerase (5 unidades/µL) (Promega) e 1,5 µL DNA pré-amplificado.

As combinações de primers utilizadas estão descritas na Tabela 3, totalizando três combinações.

A amplificação seletiva foi realizada de acordo com a seguinte programação: 94 °C por 2 minutos, 94 °C por 30 segundos, 65 °C por 30 segundos, 72 °C por 1 minuto,

Tabela 3. Relação de oligonucleotídeos iniciadores utilizados para análise de AFLP, com suas respectivas combinações.

Combinação	Primer EcoRI + A	Primer MseI + T
1	E+ ATG	M+ TCG
2	E+ AAT	M+ TC
3	E+ AGA	M+ TAA

11 vezes (94 °C por 30 segundos, 65 °C por 30 segundos, 72 °C por 1 minuto), 94 °C por 30 segundos, 56 °C por 30 segundos, 72 °C por 1 minuto, 22 vezes (94 °C por 30 segundos, 56 °C por 30 segundos, 72 °C por 1 minuto) e 72 °C por 2 minutos. Os produtos da amplificação foram armazenados a - 20 °C.

Preparo do gel de poliacrilamida: na placa de base, após limpa 2 vezes com álcool 95%, foi espalhado 1,5 mL de Repel-silane para o gel não grudar. Na placa de coloração, na qual o gel deve ficar afixado, foi aplicado uma solução contendo 1,0 mL de álcool 95%, 5,0 µL de ácido acético glacial e 5,0 µL de Bind-silane. O gel foi preparado com 120 mL de matriz de poliacrilamida (252 g de uréia, 36 g de acrilamida e 1,8 g de bisacrilamida), 120 µL de TEMED e 800 µL de APS (95 mg/mL). Após a secagem do gel de poliacrilamida, foi realizada uma pré-corrida de 1 hora, a 50 ºC com uma corrente de 80 W.

Eletroforese: Após a amplificação seletiva, o resultante de cada reação foi misturado a 8 µl de "Loading fuffer" (10 mL formamida deionizada, 200 µL de EDTA (0,5 M) pH 8,0, 10 mg de bromofenol blue e 10 mg de xylene cyanol). A seguir, as amostras foram desnaturadas a 95 °C por 5 minutos e imediatamente transferidas para gelo. Como padrão de peso molecular, foi utilizado o "ladder" de 50 bp, desnaturado juntamente com as amostras.

Os produtos AFLP foram separados em gel desnaturante de poliacrilamida 6% com tampão TBE 1X. A eletroforese foi realizada em corrente constante de 80 W e temperatura máxima de 50 °C por quatro horas.

Coloração: O gel foi corado com solução de nitrato de prata e revelado em carbonato de sódio seguindo protocolo descrito por CRESTE et al. (2001) (Tabela 4).

Tabela 4. Procedimento de colorometria por fotorevelação das placas de poliacrilamida.

Etapa	Solução	Tempo
Fixação	2670mL água destilada 30 mL ácido acético glacial 300mL etanol absoluto	10 minutos
Lavagem	água destilada	1 minuto
Pré-tratamento	3000 mL água destilada 45 mL ácido nítrico	2,40 minutos
Lavagem	água destilada	1 minuto
Impregnação	3000 mL água destilada 6g nitrato de prata	25 minutos
Lavagem	água destilada	30 segundos
Lavagem	água destilada	30 segundos
Revelação	4000 mL água destilada 120g sódio carbonato anidro 2160µL formaldeído	Até a visualização das bandas
Bloqueio	2850 mL água destilada 150 mL ácido acético glacial	5 minutos
Lavagem	água destilada	1 minuto

Visualização dos resultados: a visualização dos resultados das amostras, após a eletroforese, foi realizada com leitura visual, seguida de contagem das bandas, e fotografadas para análise.

Análise dos resultados: Análise do bandeamento produzido para cada “primer” utilizado nas análises de AFLP, foi conferido o parâmetro “1” para a presença de banda e “0” para a ausência de banda, obtendo-se assim, uma matriz binária.

3.8. Divergência Genética Entre as Matrizes

Para o estudo da divergência genética das árvores matrizes por caracteres biométricos de frutos e sementes e parâmetros da qualidade fisiológica das sementes foi usada a distância generalizada de Mahalanobis (D^2), obtida pela seguinte expressão (CRUZ & CARNEIRO, 2003):

$$(D^2_{ii'}) = \delta' \psi^{-1} \delta ,$$

em que:

$D^2_{ii'}$: distância de Mahalanobis entre os genótipos *i* e *i'*;

ψ : matriz de variâncias e covariâncias residuais;

δ' = vetor de distâncias entre dois acessos *[d1 d2 ... dv]*, sendo $dj = Yij - Yi'j$;

Yij: média do *i*-ésimo genótipo em relação à *j*-ésima variável.

De posse das distâncias entre os genótipos, procedeu-se à análise de agrupamento, usando-se dois métodos: o método da média não ponderada das dissimilaridades - UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages) e o método de otimização de Tocher. Nesse último, realiza-se a partição do conjunto de indivíduos (genótipos) em subgrupos não vazios e mutuamente exclusivos, por meio da maximização ou minimização de alguma medida pré-estabelecida. Adotou-se o critério de que a média das medidas de dissimilaridade, dentro de cada grupo, fosse menor que as distâncias médias entre quaisquer grupos (CRUZ, 2001b).

Adicionalmente foi realizado o estudo da importância relativa dos caracteres biométricos de frutos e sementes e parâmetros da qualidade fisiológica das sementes para a divergência pelo método de SINGH (1981).

Para o estudo da divergência genética das árvores matrizes através dos marcadores moleculares AFLP foi usado o coeficiente de Nei e Li obtido pela seguinte expressão (CRUZ & CARNEIRO, 2003):

$$sg_{ij} = \frac{2a}{2a + b + c}$$

em que:

sg_{ij}: coeficiente de Nei e Li para os genótipos *i* e *j*;

a: presença de bandas 11 no par de genótipos *i* e *j*;

b: discordância do tipo 10 no par de genótipos, com presença de banda no *i*-ésimo genótipo e ausência no *j*-ésimo genótipo;

c: discordância do tipo 01 no par de genótipos, com ausência de banda no *i*-ésimo genótipo e presença no *j*-ésimo genótipo.

Na análise de agrupamento dos 41 genótipos, foi utilizada a matriz constituída pelas estimativas de dissimilaridades, obtidas a partir do complemento aritmético do coeficiente de similaridade, sendo elaborada pelo método da média não ponderada das dissimilaridades - UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages). Os dendrogramas foram gerados com base nesta matriz genética, através do aplicativo computacional GENES (CRUZ, 2001b).

Acessos geneticamente diferentes foram identificados nos dendrogramas a partir da estimativa do complemento aritmético médio (dg_m), obtida pela expressão (SOKAL & ROHLF, 1962):

$$dg_m = \frac{\sum dg_{ij}}{N}$$

em que:

dg_{ij} : complemento aritmético entre cada par;

N : número de pares obtidos.

4. RESULTADOS E DISCUSÃO

4.1. Biometria de Frutos e Sementes

Para a análise biométrica de frutos e sementes, houve diferenças significativas ($P \leq 0,01$) entre as 41 árvores matrizes para todos os caracteres avaliados. As estimativas de coeficientes de variação foram baixas (< 10%) segundo a classificação de GOMES (2000), evidenciando uma boa homogeneidade do material estudado quanto às características avaliadas (Tabela 5).

Houve a formação de elevado número de grupos de médias, principalmente para a massa fresca de frutos e de sementes, sugerindo a existência de alta variabilidade no material avaliado, podendo assim ser feita uma separação e seleção de matrizes onde os frutos e, ou sementes possuam as características desejadas em relação aos caracteres estudados.

Em relação a massa fresca de sementes (MFS) e de frutos (MFF) houve a formação de 13 grupos de médias, variando de 0,558 g (matriz 22) a 0,904 g (matriz 30) para MFS e de 11,013 g (matriz 13) a 19,489 g (matriz 30) para MFF. Para o comprimento de frutos houve a formação de nove grupos que variaram entre 19,88 mm (matriz 1) e 27,00 mm (matriz 37) e para o diâmetro dos frutos, formaram-se seis grupos com médias variando de 21,75 mm (matriz 1) a 26,67 mm (matriz 30). A variação observada entre as características pode ser creditada, em grande parte, à causas genéticas, já que a localização das matrizes estudadas é relativamente próxima, onde as condições ambientais, principalmente de temperatura e precipitação são basicamente as mesmas. Resultados semelhantes foram obtidos em estudos com matrizes de *Piterogyne nitens* (PAULA, 2007) e *Tabebuia chrysotricha* (SANTOS et al., 2009). Nas espécies arbóreas tropicais existe grande variabilidade com relação aos caracteres biométricos de frutos e sementes (CRUZ & CARVALHO, 2003). A distinção e classificação das sementes e frutos por massa e tamanho pode ser uma maneira eficiente de melhorar a qualidade de lotes de sementes em relação à uniformidade de emergência e vigor das plântulas (PEDRON et al., 2004).

Tabela 5. Valores de F, coeficientes de variação experimental (CV, %), média geral (Média) e comparação de médias para massa fresca de frutos (MFF, g), comprimento de frutos (COMPF, mm), diâmetro de frutos (DIAMF, mm) e massa fresca de sementes (MFS, g) avaliados em 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam.

	MFF	**COMPF**	**DIAMF**	**MFS**
Valor de F	14.3661**	11.4702**	6.1344**	0.0208**
CV (%)	2,57	1,85	1,95	1,22
Média	14,190	23,42	24,18	0,725
Matriz		**Médias**		
1	12,806 i	19,88 i	21,75 f	0,700 i
2	15,233 e	23,69 e	25,32 c	0,818 c
3	14,553 g	21,26 h	22,36 f	0,727 h
4	13,793 h	23,44 e	24,01 d	0,741 g
5	13,811 h	22,39 g	22,88 e	0,695 i
6	13,512 h	23,11 f	23,46 d	0,688 i
7	13,743 h	23,89 d	24,94 c	0,694 i
8	15,020 f	22,39 g	24,86 c	0,807 d
9	11,614 l	22,77 g	24,63 c	0,689 i
10	13,474 h	22,60 g	24,28 c	0,716 h
11	12,849 i	21,30 h	23,65 d	0,693 i
12	14,520 g	24,32 d	25,59 b	0,635 l
13	11,013 m	22,14 g	24,36 c	0,672 j
14	12,289 j	22,14 g	23,34 d	0,681 j
15	16,818 c	22,86 f	25,04 c	0,869 b
16	13,667 h	21,81 h	23,40 d	0,715 h
17	15,334 e	25,24 c	24,86 c	0,788 e
18	11,913 k	21,55 h	22,22 f	0,657 k
19	16,075 d	25,04 c	25,67 b	0,808 d
20	11,839 k	22,38 g	22,77 e	0,629 l
21	12,437 j	23,20 f	23,47 d	0,651 k
22	11,546 l	22,99 f	23,12 d	0,558 m
23	13,419 h	22,09 g	22,87 e	0,686 j
24	12,341 j	26,39 a	25,00 c	0,625 l
25	14,461 g	20,38 i	22,17 f	0,815 d
26	14,794 f	25,15 c	24,81 c	0,719 h
27	16,554 c	25,68 b	25,95 b	0,819 c
28	15,939 d	25,72 b	26,30 a	0,764 f
29	17,580 b	25,22 c	24,72 c	0,765 f
30	19,489 a	26,09 b	26,67 a	0,904 a
31	15,390 e	23,25 f	24,75 c	0,749 g
32	13,308 h	25,21 c	25,68 b	0,683 j
33	12,713 i	22,51 g	23,89 d	0,691 i
34	14,847 f	24,32 d	23,67 d	0,727 h
35	16,927 c	23,77 e	24,95 c	0,822 c
36	14,299 g	24,29 d	22,93 e	0,741 g
37	16,918 c	27,00 a	24,35 c	0,831 c
38	11,940 k	22,29 g	22,28 f	0,692 i
39	16,031 d	25,71 b	25,81 b	0,713 h
40	12,650 i	21,71 h	23,80 d	0,648 k
41	14,328 g	23,14 f	24,77 c	0,718 h

** - valor significativo pelo teste F ($P \leq 0,01$).
Médias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si ($P > 0,05$) pelo teste de Scott-Knott.

4.2. Teste de Germinação

No teste de germinação, assim como para as análises biométricas, houve diferenças significativas (P ≤ 0,01) para todas as características avaliadas confirmando a variabilidade do material estudado (Tabela 6). De acordo com a classificação de GOMES (2000), os coeficientes de variação experimental foram médios (10 a 20%) para porcentagem de sementes com protrusão radicular, porcentagem de plântulas normais e comprimento de plântulas; altos (20 a 30%) para índice de velocidade de germinação e massa de matéria fresca de plântulas e muito alto (> 30%) para massa de matéria seca de plântulas e porcentagem de plântulas albinas. O alto coeficiente de variação observado para porcentagem de plântulas albinas (78,23%) deve-se ao fato de muitas matrizes não produzirem plântulas albinas, e nas matrizes que as produziram, a irregularidade entre as repetições era grande, elevando muito a estimativa desse coeficiente.

Para sementes de espécies florestais nativas, mesmo em experimentos de laboratório, com condições relativamente uniformes e controladas, tem sido comum a constatação de estimativas altas de coeficiente de variação. Isso demonstra a heterogeneidade das sementes constituintes dos lotes usados em pesquisa e comercialização. Maiores coeficientes de variação, geralmente, estão associados à grande variabilidade de respostas entre as repetições de um mesmo tratamento, fato que pode dificultar a constatação de diferenças estatísticas entre tratamentos, mesmo naqueles com médias relativamente discrepantes (PAULA, 2007).

Para o índice de velocidade de germinação (IVG) e massa de matéria fresca de plântulas (MFP), houve a formação de cinco grupos de médias, que variaram de 0,35 (matriz 22) a 4,91 (matriz 21) para o IVG e de 0,043 g (matriz 7) a 0,458 g (matriz 2) para MFP. Em relação à porcentagem de sementes com protrusão radicular (GER), de plântulas normais (PN) e de plântulas albinas (PA) e à massa de matéria seca de plântulas (MSP), formaram-se quatro grupos de médias variando de 15% (matriz 7) a 65% (matriz 21) para GER, de 15% (matriz 7) a 57% (matriz 29) para PN, de 0% (num

Tabela 6. Valores de F, coeficientes de variação experimental (CV, %), média geral (Média) e comparação de médias obtida para sementes com protrusão da radícula (GER, $\text{arcsen}(\sqrt{G/100})$), plântulas normais (PN, $\text{arcsen}(\sqrt{G/100})$) e albinas (PA, $\text{arcsen}(\sqrt{G/100})$), índice de velocidade de germinação (IVG), massa de matéria fresca (MFP, g) e seca de plântulas (MSP, g) e comprimento de plântulas (CP, cm) após o teste de germinação provenientes de sementes de 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam.

	GER	**PN**	**PA**	**IVG**	**MFP**	**MSP**	**CP**
Valor de F	763.0445**	566.7329**	179.9162**	6.5013**	0.0568**	0.0007**	1.8230**
CV (%)	12,84	14,62	78,23	20,13	25,1	34,32	14,28
Média	44	40	5	2,60	0,259	0,029	6,04
Matriz				**Médias**			
1	49 b	45 b	0 a	2,91 c	0,286 c	0,032 b	5,72 b
2	62 a	56 a	0 a	4,40 a	0,458 a	0,048 a	6,73 a
3	53 b	49 b	0 a	3,26 c	0,338 b	0,038 b	6,70 a
4	50 b	47 b	0 a	3,02 c	0,312 b	0,034 b	6,55 a
5	52 b	51 a	0 a	3,53 c	0,343 b	0,035 b	5,96 a
6	46 b	41 b	15 d	2,96 c	0,281 c	0,034 b	6,04 a
7	15 d	15 d	0 a	0,36 e	0,043 e	0,004 d	5,84 b
8	23 d	23 d	0 a	0,64 e	0,098 e	0,011 d	5,19 b
9	22 d	21 d	0 a	0,69 e	0,089 e	0,009 d	6,52 a
10	35 c	32 c	10 c	1,48 d	0,115 e	0,018 c	4,34 b
11	22 d	18 d	6 b	0,74 e	0,074 e	0,008 d	5,20 b
12	20 d	18 d	0 a	0,56 e	0,066 e	0,007 d	6,72 a
13	37 c	35 c	0 a	1,91 d	0,211 d	0,025 c	4,76 b
14	49 b	43 b	17 d	3,31 c	0,265 c	0,031 b	5,19 b
15	39 c	34 c	6 b	2,23 d	0,222 d	0,027 c	5,45 b
16	57 a	47 b	17 d	3,66 b	0,337 b	0,037 b	6,17 a
17	53 b	48 b	14 d	3,21 c	0,365 b	0,040 b	6,71 a
18	53 b	44 b	20 d	3,29 c	0,259 c	0,027 c	5,99 a
19	38 c	34 c	9 c	1,82 d	0,208 d	0,020 c	6,00 a
20	35 c	32 c	0 a	1,73 d	0,150 d	0,015 d	5,76 b
21	65 a	54 a	16 d	4,91 a	0,375 a	0,037 b	6,59 a
22	20 d	18 d	0 a	0,35 e	0,048 e	0,005 d	5,64 b
23	37 c	35 c	7 b	1,96 d	0,206 d	0,023 c	6,43 a
24	53 b	48 b	6 b	3,80 b	0,276 c	0,027 c	5,59 b
25	48 b	46 b	0 a	2,73 c	0,354 b	0,040 b	6,70 a
26	38 c	35 c	7 b	2,00 d	0,209 d	0,024 c	6,56 a
27	62 a	54 a	0 a	4,57 a	0,420 a	0,050 a	6,96 a
28	36 c	36 c	0 a	1,87 d	0,192 d	0,024 c	6,05 a
29	61 a	57 a	0 a	3,98 b	0,445 a	0,048 a	7,22 a
30	62 a	55 a	14 d	4,34 a	0,448 a	0,054 a	7,35 a
31	32 c	31 c	0 a	1,63 d	0,174 d	0,017 c	6,86 a
32	37 c	34 c	0 a	1,85 d	0,231 d	0,025 c	6,15 a
33	54 b	53 a	0 a	3,69 b	0,359 b	0,041 b	6,28 a
34	39 c	35 c	10 c	1,84 d	0,234 d	0,034 b	5,55 b
35	60 a	53 a	12 c	4,05 b	0,411 a	0,046 a	6,06 a
36	62 a	56 a	15 d	4,23 a	0,435 a	0,056 a	6,50 a
37	47 b	44 b	0 a	2,87 c	0,337 b	0,037 b	5,50 b
38	61 a	50 a	16 d	3,94 b	0,339 b	0,035 b	5,43 b
39	44 b	37 c	0 a	2,63 c	0,225 d	0,022 c	5,33 b
40	28 d	26 d	0 a	1,10 e	0,114 e	0,013 d	5,14 b
41	46 b	40 b	0 a	2,50 c	0,258 c	0,027 c	6,09 a

** - valor significativo pelo teste F ($P \leq 0,01$).
Médias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si ($P > 0,05$) pelo teste de Scott-Knott.

total de 23 matrizes) a 20% (matriz 18) para PA e de 0,004 g (matriz 7) a 0,056 g (matriz 36) para MSP. Para o comprimento de plântulas apenas dois grupos foram formados, variando de 4,34 cm (matriz 10) a 7,35 cm (matriz 30).

Para GER e PN, houve a formação do mesmo número de grupos, e com pequenas alterações na constituição desses grupos. Há uma pequena defasagem da porcentagem de plântulas normais em relação à porcentagem de sementes com protrusão radicular, posto que nem toda semente que apresenta protrusão de radícula origina plântula normal. Também, se for considerado que o teste foi encerrado com 22 dias, as sementes que germinaram mais ao final do teste não tiveram tempo suficiente para a produção de plântulas normais, o que não implica que estas não o fariam caso o encerramento do teste fosse prolongado. A opção por não se prolongar demasiadamente o teste de germinação apóia-se, por exemplo, no fato de não expor as sementes e ou plântulas à contaminação por fungos, à necessidade de maior uso de mão-de-obra e de espaço no laboratório, dentre outras. Assim, o período de encerramento do teste de germinação deve ser cuidadosamente estabelecido para cada espécie, de forma a contornar estes problemas sem comprometer os resultados (PAULA, 2007).

A composição dos grupos observados para o índice de velocidade de germinação se aproximou bastante do observado para porcentagem de sementes com protrusão da radícula e de plântulas normais, demonstrando a eficiência do mesmo na caracterização da qualidade fisiológica das sementes e na discriminação das matrizes, assim como observado por PAULA (2007) estudando o comportamento das sementes de 45 árvores matrizes de *Piterogyne nitens* e por GONÇALVES et al. (2009) em estudo com sementes de *Guazuma ulmifolia* de diferentes procedências. A massa de matéria fresca e seca de plântulas também seguiram o mesmo padrão de discriminação das matrizes obtidas nas características anteriores.

Não houve uma linha bem definida de separação de grupos para a porcentagem de plântulas albinas e comprimento de plântulas, sendo que essas características não discriminaram de forma adequada as matrizes estudadas, quando comparadas com as demais características avaliadas. Esse fato também foi observado por SANTOS et al.

(2009) para o comprimento de plântulas em estudo com sementes de diferentes árvores matrizes de *Tabebuia chrysotricha*.

4.3. Testes de Envelhecimento Acelerado e Condutividade Elétrica

Após as sementes serem submetidas ao tratamento pré-germinativo e ficarem em repouso sobre bancada de laboratório para secagem, foi determinado o teor de água das mesmas (Tabela 7) anteriormente à instalação do teste de condutividade elétrica. Não houve grande variação no teor de água das sementes, sendo a média das matrizes igual a 10%, com variação de 8,1% (matriz 11) até 11,8% (matriz 5).

Tabela 7. Teor de água (%) das sementes de 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam. antes da realização do teste de condutividade elétrica.

Matriz	TA (%)	Matriz	TA (%)	Matriz	TA (%)
1	11,6	15	10,2	29	10,5
2	11,1	16	8,6	30	8,6
3	10,6	17	11,2	31	11,2
4	10,1	18	8,8	32	10,2
5	11,8	19	10,2	33	11,4
6	9,2	20	9,2	34	9,4
7	10,1	21	9,4	35	8,7
8	9,1	22	10,6	36	9,9
9	10,8	23	10,5	37	9,6
10	10,2	24	8,9	38	11,3
11	8,1	25	10,4	39	10,2
12	9,0	26	9,1	40	10,5
13	9,5	27	9,1	41	9,4
14	9,4	28	10,7	-	-

Para os testes de envelhecimento acelerado e de condutividade elétrica houve diferenças significativas ($P \leq 0,01$) entre as matrizes para todas as características avaliadas (Tabela 8). Os coeficientes de variação foram médios para a porcentagem de sementes com protrusão da radícula e de plântulas normais, índice de velocidade de germinação, comprimento de plântulas e para a condutividade elétrica, altos para massa de matéria fresca e seca de plântulas e muito alto para porcentagem de

Tabela 8. Valores de F, coeficientes de variação experimental (CV, %), média geral (Média) e comparação de médias obtida para sementes com protrusão da radícula (GER-EA, $\text{arcsen}(\sqrt{G/100})$), plântulas normais (PN-EA, $\text{arcsen}(\sqrt{G/100})$) e albinas (PA-EA, $\text{arcsen}(\sqrt{G/100})$), índice de velocidade de germinação (IVG-EA), massa de matéria fresca (MFP-EA, g) e seca de plântulas (MSP-EA, g) e comprimento de plântulas (CP-EA, cm) obtidos no teste de envelhecimento acelerado a 45 ºC por 96 h e condutividade elétrica de massa (CE-24h, em $\mu S.cm^{-1}.g^{-1}$) obtida em amostras com 40 sementes embebidas em 75 mL de água por 24 h e avaliados em 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam.

	GER-EA	PN-EA	PA-EA	IVG-EA	MFP-EA	MSP-EA	CP-EA	CE-24H
Valor de F	536.6532**	383.6705**	186.8929**	3.7152**	0.0278**	0.0003**	0.6744**	910.5358**
CV (%)	11	17,65	81,1	19,93	25,19	27,82	10,07	11,13
Média	43	35	6	2,18	0,194	0,021	5,83	146,1
Matriz				**Médias**				
1	47 c	40 a	0 a	2,46 c	0,219 b	0,022 c	5,87 a	136,3 a
2	53 b	45 a	0 a	3,02 c	0,330 a	0,033 b	6,23 a	165,0 b
3	60 a	48 a	0 a	3,49 b	0,226 b	0,029 b	5,91 a	138,3 a
4	59 a	47 a	0 a	2,66 c	0,283 a	0,029 b	6,29 a	157,9 b
5	50 c	42 a	0 a	2,88 c	0,293 a	0,027 c	6,07 a	162,1 b
6	46 c	41 a	10 b	2,75 c	0,253 a	0,027 c	5,95 a	161,0 b
7	18 g	15 c	11 b	0,39 f	0,048 d	0,005 e	5,48 b	144,7 a
8	24 g	18 c	0 a	0,71 f	0,094 d	0,010 e	5,76 a	131,9 a
9	21 g	18 c	0 a	0,54 f	0,070 d	0,007 e	5,76 a	146,3 a
10	43 d	32 b	16 c	2,26 c	0,192 b	0,024 c	6,31 a	171,7 b
11	29 f	23 c	11 b	1,02 e	0,088 d	0,009 e	5,24 b	148,6 a
12	26 g	16 c	11 b	0,87 e	0,052 d	0,005 e	5,25 b	159,1 b
13	29 f	23 c	0 a	1,17 e	0,080 d	0,009 e	5,17 b	170,5 b
14	50 c	40 a	14 c	2,95 c	0,215 b	0,022 c	5,28 b	142,3 a
15	39 e	33 b	7 b	1,92 d	0,181 b	0,019 d	5,60 b	129,1 a
16	52 b	43 a	10 b	2,63 c	0,266 a	0,029 b	5,66 b	155,0 b
17	51 b	43 a	16 c	3,23 b	0,283 a	0,023 c	6,39 a	130,2 a
18	53 b	40 a	20 c	3,33 b	0,205 b	0,029 b	5,90 a	138,5 a
19	31 f	26 b	10 b	1,10 e	0,127 c	0,015 d	6,66 a	136,8 a
20	35 e	32 b	0 a	1,81 d	0,151 c	0,019 d	5,95 a	138,6 a
21	58 a	44 a	11 b	3,88 a	0,245 b	0,024 c	5,91 a	181,5 b
22	24 g	19 c	0 a	0,68 f	0,054 d	0,005 e	5,27 b	173,1 b
23	47 c	38 a	13 c	2,44 c	0,213 b	0,019 d	5,92 a	165,9 b
24	52 b	44 a	0 a	2,70 c	0,240 b	0,026 c	6,05 a	155,7 b
25	45 d	31 b	0 a	2,47 c	0,263 a	0,026 c	6,18 a	137,0 a
26	41 d	33 b	19 c	2,06 d	0,161 c	0,016 d	5,57 b	155,1 b
27	54 b	44 a	0 a	2,92 c	0,267 a	0,030 b	6,14 a	134,0 a
28	41 d	34 b	0 a	1,92 d	0,175 c	0,021 c	6,01 a	148,6 a
29	50 c	41 a	0 a	2,68 c	0,225 b	0,031 b	5,93 a	132,0 a
30	50 c	42 a	17 c	2,94 c	0,325 a	0,042 a	6,41 a	128,8 a
31	35 e	32 b	3 a	1,56 d	0,168 c	0,019 d	6,04 a	135,3 a
32	31 f	25 b	0 a	1,24 e	0,112 c	0,012 e	5,14 b	146,0 a
33	58 a	51 a	0 a	3,95 a	0,321 a	0,033 b	6,12 a	130,0 a
34	33 f	27 b	15 c	1,50 d	0,124 c	0,013 e	5,71 b	154,8 b
35	60 a	48 a	14 c	4,02 a	0,328 a	0,038 a	6,17 a	122,5 a
36	48 c	35 a	6 a	2,48 c	0,186 b	0,022 c	6,01 a	141,6 a
37	50 c	39 a	0 a	1,80 d	0,281 a	0,030 b	6,38 a	120,7 a
38	46 d	36 a	9 b	2,05 d	0,208 b	0,026 c	5,44 b	123,6 a
39	39 e	33 b	0 a	1,86 d	0,187 b	0,024 c	5,67 b	145,1 a
40	31 f	22 c	0 a	1,17 e	0,081 d	0,010 e	4,80 b	151,0 b
41	36 e	30 b	0 a	1,74 d	0,133 c	0,018 d	5,61 b	142,5 a

** - valor significativo pelo teste F ($P \leq 0,01$).

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si ($P > 0,05$) pelo teste de Scott-Knott.

plântulas albinas, à semelhança do observado para o teste de germinação de sementes não envelhecidas.

Para a porcentagem de sementes com protrusão radicular houve a formação de sete grupos com médias variando de 18% (matriz 7) a 60% (matriz 3 e 35); para o índice de velocidade de germinação formaram-se seis grupos com variação entre 0,39 (matriz 7) e 4,02 (matriz 35); para massa de matéria seca de plântulas houve a formação de cinco grupos com variação de 0,005 g (matriz 7 e 12) até 0,042 g (matriz 30); para massa de matéria fresca de plântulas houve a formação de quatro grupos de médias com variação entre 0,048 g (matriz 7) e 0,330 (matriz 2); para a porcentagem de plântulas normais (PN-EA) e de plântulas albinas (PA-EA) formaram-se três grupos, onde a variação para PN-EA foi de 15% (matriz 7) a 51% (matriz 33) e para PA-EA foi de 0% (matrizes 1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 13, 20, 22, 24, 25, 27, 28, 29, 32, 33, 37, 39, 40 e 41) a 20% (matriz 18); para o comprimento de plântulas e para a condutividade elétrica formaram-se dois grupos variando de 4,80 cm (matriz 40) a 6,66 cm (matriz 19) para comprimento de plântulas e de 120,7 $\mu S.cm^{-1}.g^{-1}$ (matriz 37) a 181,5 $\mu S.cm^{-1}.g^{-1}$ (matriz 21).

O teste de envelhecimento acelerado mostrou-se pouco danoso para a germinação das sementes (GER-EA) de *Guazuma ulmifolia* em relação ao teste de germinação, mas por outro lado, conseguiu separar as matrizes em um maior número de grupos, comparativamente ao teste de germinação de sementes não-envelhecidas, o que pode facilitar a seleção das mesmas. O padrão de separação das matrizes para o índice de velocidade de germinação, porcentagem de plântulas normais e para massa de matéria fresca e seca de plântulas foi semelhante ao observado no teste de germinação. A porcentagem de plântulas albinas e o comprimento de plântulas, de forma semelhante ao observado para sementes não envelhecidas (Tabela 6), não apresentaram um padrão definido de discriminação das matrizes.

Não foi constatado um padrão de separação das matrizes de acordo com a qualidade fisiológica das sementes para a condutividade elétrica. Em estudo com a mesma espécie, onde foram analisadas diferentes combinações de número de sementes, volume de água e períodos de embebição, GONÇALVES et al. (2008)

constataram que o teste de condutividade elétrica não foi adequado para avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes de diferentes procedências. SOTO GONZALES et al. (2009), estudando diferentes árvores matrizes de *Albizia hassleri*, também não conseguiram discriminá-las quanto à qualidade fisiológica das sementes pelo teste de condutividade elétrica.

4.4. Correlação Entre Caracteres

As estimativas de correlações entre os caracteres avaliados são apresentados na Tabela 9. Para as discussões acerca dos coeficientes de correlação foi admitido como 0,7 o valor mínimo aceitável de uma boa correlação entre quaisquer duas características.

Entre os caracteres biométricos de sementes e frutos houve uma boa correlação entre a massa fresca de sementes e de frutos e entre comprimento e diâmetro de frutos. FARIAS NETO & OLIVEIRA (2002) encontraram correlação positiva entre o peso dos frutos e o peso das sementes de *Astrocarym vulgare*, e GUSMÃO et al. (2006) verificaram correlação positiva entre comprimento e diâmetro dos frutos de *Byrsonima verbascifolia*, assim como ARRIEL et al. (2004) para o comprimento e o diâmetro de frutos de *Cnidoscolus phyllacanthus*. As correlações entre as características biométricas de sementes e frutos com as demais características estudadas nos demais testes foram baixas.

Em relação ao teste de germinação, à exceção da porcentagem de plântulas albinas e do comprimento de plântulas, todos os caracteres estão altamente correlacionados. Excluindo as mesmas características não correlacionadas no teste de germinação, há também uma grande correlação dos caracteres analisados no envelhecimento acelerado tanto entre si como entre os mesmos caracteres avaliados no teste de germinação. Estes resultados já eram esperados, posto que matrizes com bom desempenho germinativo no teste de germinação tendem a manter, em grande parte, este desempenho no teste de envelhecimento acelerado (PAULA, 2007). Grande

Tabela 9. Estimativas de correlações entre as características biométricas de frutos e de sementes e de qualidade fisiológica avaliadas nos testes de germinação, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica, em 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam.

	MFF	**COMPF**	**DIAMF**	**GER**	**IVG**	**PN**	**PA**	**MFP**	**MSP**
MFS	0,845	0,315	0,435	0,352	0,325	0,374	0,026	0,491	0,529
MFF		0,578	0,600	0,279	0,265	0,300	-0,053	0,415	0,447
COMPF			0,757	0,142	0,170	0,149	-0,032	0,206	0,211
DIAMF				-0,127	-0,089	-0,123	-0,224	-0,042	-0,032
GER					0,988	0,985	0,422	0,962	0,929
IVG						0,973	0,415	0,950	0,910
PN							0,326	0,973	0,943
PA								0,295	0,319
MFP									0,978
MSP									
CP									
GER-EA									
IVG-EA									
PN-EA									
PA-EA									
MFP-EA									
MSP-EA									
CP-EA									

	CP	**GER-EA**	**IVG-EA**	**PN-EA**	**PA-EA**	**MFP-EA**	**MSP-EA**	**CP-EA**	**CE-24h**
MFS	0,314	0,265	0,216	0,273	0,065	0,464	0,480	0,568	-0,560
MFF	0,432	0,215	0,169	0,233	0,090	0,373	0,446	0,487	-0,476
COMPF	0,261	0,042	-0,031	0,076	0,033	0,123	0,161	0,303	-0,145
DIAMF	0,183	-0,218	-0,215	-0,160	-0,017	-0,068	-0,020	0,128	-0,104
GER	0,395	0,885	0,854	0,866	0,048	0,847	0,867	0,491	-0,220
IVG	0,408	0,884	0,864	0,873	0,043	0,850	0,860	0,471	-0,188
PN	0,421	0,897	0,865	0,884	-0,028	0,875	0,880	0,544	-0,227
PA	-0,033	0,363	0,426	0,322	0,784	0,287	0,307	0,125	-0,006
MFP	0,511	0,836	0,801	0,823	-0,021	0,855	0,853	0,531	-0,289
MSP	0,478	0,806	0,773	0,785	0,029	0,821	0,825	0,513	-0,292
CP		0,348	0,364	0,361	-0,002	0,386	0,384	0,399	-0,169
GER-EA			0,953	0,974	0,093	0,916	0,895	0,539	-0,136
IVG-EA				0,941	0,192	0,882	0,860	0,504	-0,112
PN-EA					0,052	0,931	0,907	0,573	-0,175
PA-EA						0,059	0,067	0,058	0,050
MFP-EA							0,944	0,675	-0,231
MSP-EA								0,649	-0,323
CP-EA									-0,250

MFS – massa fresca de sementes; **MFF, COMPF, DIAMF** – massa fresca, comprimento e diâmetro de frutos; **GER** – germinação; **IVG** – índice de velocidade de germinação; **PN** – plântulas normais; **PA** – plântulas albinas; **MFP, MSP** – massa de matéria fresca e seca de plântulas; **CP** – comprimento de plântulas; **CE-24h** – condutividade elétrica com 24 horas de embebição; **EA** – envelhecimento acelerado.

parte dos resultados obtidos por este autor com sementes de *Piterogyne nitens*, estão em concordância com dados aqui apresentados. Há também uma boa concordância destes resultados com aqueles obtidos por SANTOS et al. (2009) com sementes de *Tabebuia chrysotricha*.

4.5. Marcadores Moleculares AFLP

A utilização das 3 combinações de “primers” na avaliação da caracterização genética das 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia*, permitiu a obtenção de 213 marcas, obtendo uma média de 71 bandas por combinação de “primers” avaliados. Na Tabela 10 encontram-se as quantidades de bandas produzidas para cada combinação de “primers”.

Tabela 10. Número de bandas por combinações de “primer” testado discriminando o total de bandas monomórficas e polimórficas obtidas de 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam. com marcadores AFLP.

Combinação	Bandas Polimórficas	Bandas Monomórficas	Total de bandas
1	47	8	55
2	69	4	73
3	83	2	85
TOTAL	**199**	**14**	**213**

Dos 213 fragmentos produzidos neste trabalho, observou-se apenas 14 bandas monomórficas, ou seja, apenas essas bandas não apresentaram variação quanto à presença ou ausência de bandas de mesmo comprimento em pares de base entre os indivíduos em estudo. Os géis de poliacrilamida com as combinações realizadas podem se visualizados nas Figuras 9, 10 e 11.

Para separação e identificação dos produtos de amplificação por AFLP, um dos métodos mais adequados é a eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante, o qual proporciona um alto nível de resolução. O número de fragmentos visualizados em géis

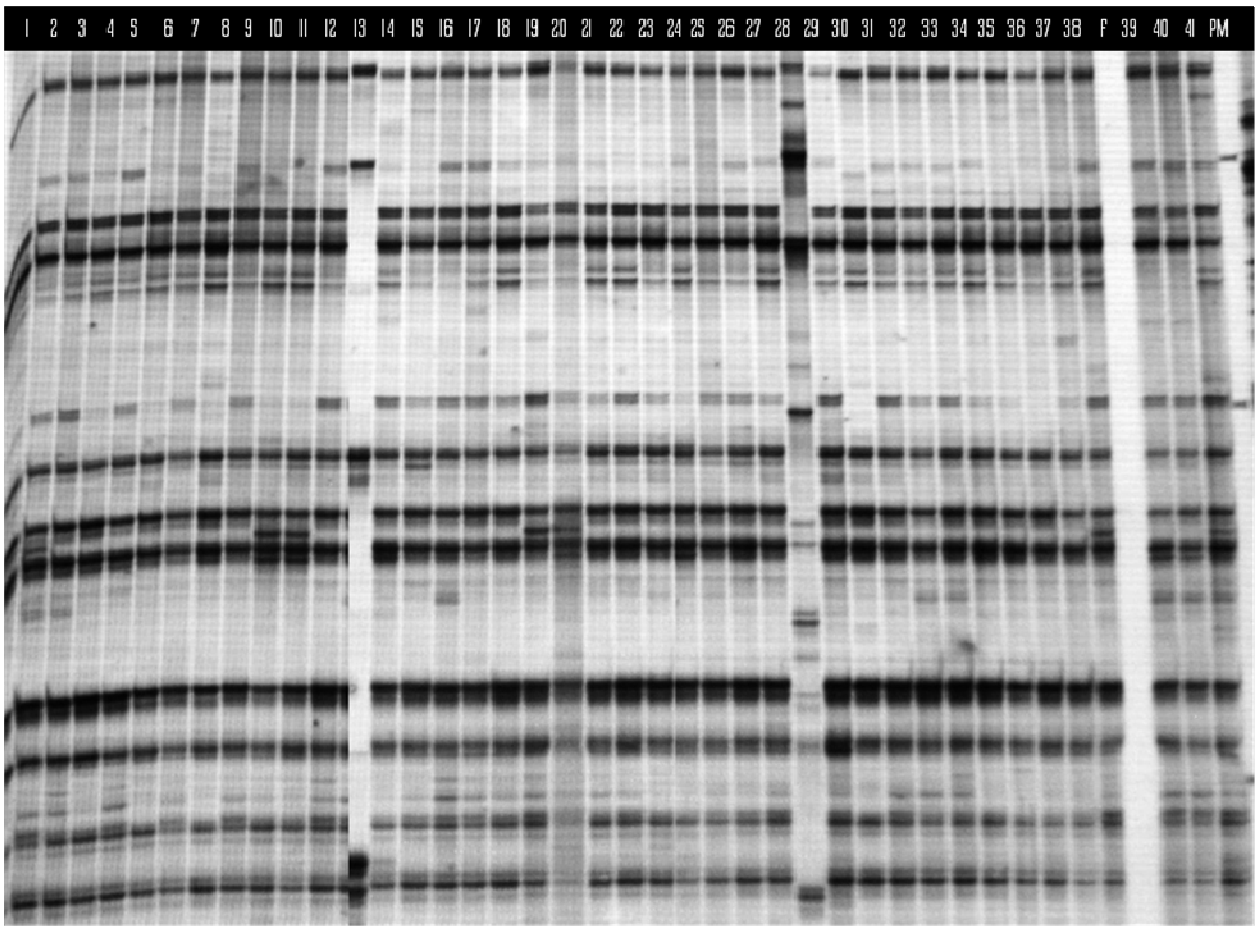

Figura 9. Produtos da amplificação da combinação 1 com marcadores do tipo AFLP de 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam., revelados em gel de poliacrilamida. As numerações de 1 a 41 referem-se aos genótipos. A marcação F indica falha no gel e PM indica o peso molecular.

de poliacrilamida varia de algumas dezenas até mais de uma centena. Teoricamente, quanto maior o genoma, maior será o número de fragmentos. Esta técnica detecta um maior número de locos, comparativamente a algumas outras técnicas de marcadores moleculares como o RAPD, e possibilita a ampla cobertura do genoma apresentando um baixo custo pro informação (loco) (LOPES et al., 2002).

SANTOS et al. (2008) obtiveram 157 bandas polimórficas e 54 bandas monomórficas de AFLP em 13 combinações de iniciadores EcoRI/MseI, analisando a similaridade genética de acessos de mangueira de diferentes origens geográficas, com uma média próxima a 16 bandas por combinação de iniciadores.

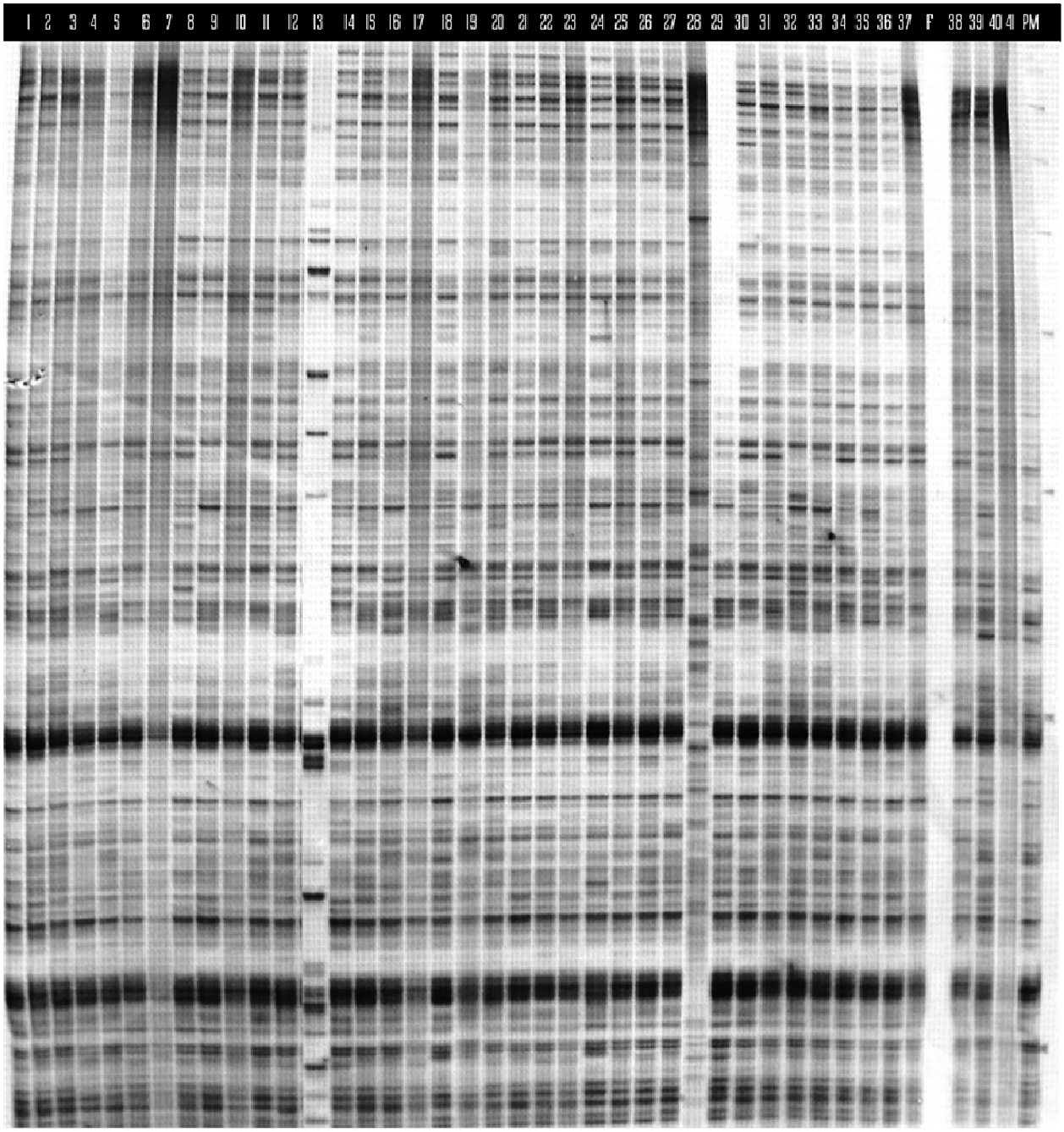

Figura 10. Produtos da amplificação da combinação 2 com marcadores do tipo AFLP de 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam., revelados em gel de poliacrilamida. As numerações de 1 a 41 referem-se aos genótipos. A marcação F indica falha no gel e PM indica o peso molecular.

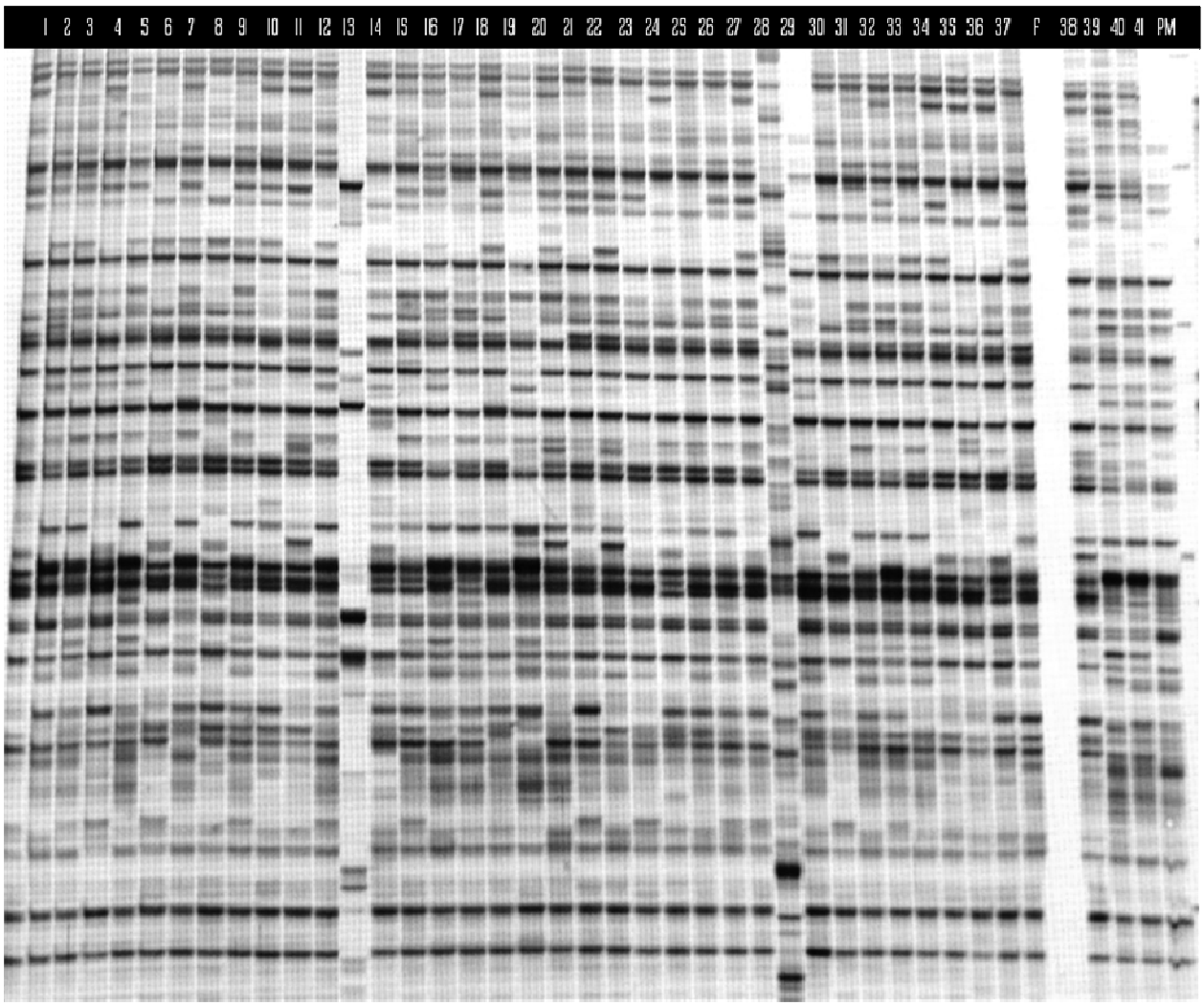

Figura 11. Produtos da amplificação da combinação 3 com marcadores do tipo AFLP de 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam., revelados em gel de poliacrilamida. As numerações de 1 a 41 referem-se aos genótipos. A marcação F indica falha no gel e PM indica o peso molecular.

SOUZA (2006) avaliando a diversidade genética de 243 indivíduos de 5 populações diferentes de *Araucaria angustifolia* através do uso de marcador molecular AFLP, utilizando 6 combinações de iniciador/enzima, obteve um total de 683 bandas, com uma média próxima a 114 bandas por combinação. Já SANTOS et al. (2001), utilizando 3 combinações de “primers” AFLP, obtiveram 437 bandas, com uma média próxima a 146 bandas por combinação em estudo de variedades clonais de cacau.

4.6. Divergência Genética Entre as Matrizes

4.6.1. Divergência genética através de características de frutos e sementes

Para a análise de agrupamento dos materiais por caracteres biométricos de frutos e sementes e parâmetros da qualidade fisiológica das sementes, a estimativa de medidas da distância entre pares de genótipos para o conjunto de características avaliadas foi obtida pela distância generalizada de Mahalanobis (Tabela 11). Percebe-se que as matrizes mais similares (menor distância) são a 26 e a 34 (26,1) e as mais divergentes (maior distância) são a 22 e a 30 (2832,9). A média das distâncias entre as árvores matrizes foi 352,7.

Contudo, torna-se extremamente complexo determinar quais as matrizes são mais ou menos similares, apenas com a análise das distâncias entre os pares de matrizes avaliadas, fazendo-se necessário adotar a análise de agrupamento (PAULA, 2007).

Os agrupamentos por caracteres biométricos de frutos e sementes e parâmetros da qualidade fisiológica das sementes, foram realizados pelos métodos de Tocher e UPGMA.

O número de grupos e a composição de cada um pelo método de Tocher em relação as 41 árvores matrizes, no conjunto das 19 características estudadas, são apresentados na Tabela 12. Houve a formação de cinco grupos, o que evidencia a divergência entre o material estudado. O grupo I conta com 27 matrizes, sendo o maior deles, ou seja, com 65,85% das matrizes avaliadas. O grupo II é formado por 10 matrizes (24,39%); o grupo III é constituído por 2 matrizes (4,88%), e os grupos IV e V formam grupos unitários, ou seja, formados por apenas uma matriz (2,44%).

O agrupamento promovido pelo método UPGMA em relação às 41 árvores matrizes estudadas, também no conjunto das 19 características estudadas, pode ser visualizado no dendrograma apresentado na Figura 12. Formaram-se 4 grupos a partir da linha de corte traçada pela estimativa do complemento aritmético médio (352,70),

Tabela 11. Distância generalizada de Mahalanobis entre 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam. a partir de 19 características de frutos e sementes e de testes de germinação, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica.

Matrizes	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	394,7	59,2	120,7	58,1	121,1	239,9	325,9	160,0	126,1	93,9	301,7	137,3	103,6	719,1
2		217,4	171,3	295,9	366,4	422,0	119,3	550,1	324,3	460,9	631,7	643,7	500,2	113,2
3			57,8	59,0	131,9	263,6	230,6	270,5	135,9	173,1	333,5	276,4	164,4	468,6
4				78,1	141,9	244,5	229,4	254,4	140,4	203,7	320,2	272,9	194,6	450,6
5					43,3	143,0	277,2	143,4	75,0	101,0	187,0	146,3	79,3	640,3
6						86,9	308,1	109,1	45,6	69,4	132,6	117,1	33,5	697,0
7							236,0	66,8	80,2	66,2	72,9	144,4	157,2	683,3
8								342,6	212,0	275,9	466,5	482,9	424,9	162,5
9									102,1	42,9	133,4	37,9	116,3	902,9
10										56,6	153,7	123,2	77,3	595,9
11											128,1	61,6	70,2	748,7
12												163,5	184,8	982,8
13													83,0	1069,2
14														871,2
15														
16														
17														
18														
19														
20														
21														
22														
23														
24														
25														
26														
27														
28														
29														
30														
31														
32														
33														
34														
35														
36														
37														
38														
39														
40														

Continua...

Tabela 11. Distância generalizada de Mahalanobis entre 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam. a partir de 19 características de frutos e sementes e de testes de germinação, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica. (Continuação)

Matrizes	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
1	69,4	439,1	215,0	521,2	194,7	180,5	482,4	55,0	378,5	251,4	256,1	635,5	378,1
2	261,5	85,3	766,8	100,9	817,3	589,3	1360,6	368,5	796,4	118,7	215,5	63,7	113,6
3	66,6	244,6	321,6	335,3	337,6	221,5	701,8	78,7	427,7	167,9	164,1	367,8	214,6
4	85,4	182,1	405,0	277,5	374,1	243,0	708,4	90,4	352,4	216,5	113,3	282,2	146,4
5	43,0	302,6	194,0	370,2	168,2	108,9	450,4	33,5	223,9	261,4	120,7	471,7	219,2
6	37,7	301,1	119,0	360,5	136,3	70,0	380,4	35,1	171,2	350,3	85,3	531,7	232,5
7	151,4	379,8	247,4	306,9	177,2	238,2	392,9	121,4	264,6	407,7	102,8	574,3	205,6
8	241,6	186,8	628,3	84,3	630,6	598,5	1115,4	303,4	783,9	91,9	202,1	247,2	119,9
9	154,9	545,4	176,7	508,7	85,8	201,4	271,7	110,5	245,9	448,0	226,1	791,4	369,3
10	52,1	299,1	165,5	296,0	184,6	158,3	467,3	54,5	276,5	284,6	93,2	510,6	197,4
11	79,9	456,9	153,2	445,6	123,1	172,3	335,0	53,1	302,8	350,5	178,8	694,2	324,9
12	220,0	552,1	271,0	530,4	158,9	197,3	238,6	147,3	180,2	665,9	172,4	763,5	317,8
13	153,9	643,2	137,0	665,1	61,8	137,1	201,0	107,5	202,5	546,9	287,9	910,6	479,3
14	54,7	434,9	65,0	533,1	115,1	45,1	334,9	48,9	181,9	434,4	181,3	714,7	380,5
15	556,9	179,7	1203,9	135,2	1295,3	1048,6	1945,6	686,1	1337,7	216,6	437,9	123,8	252,1
16		256,8	168,4	322,6	221,2	118,0	530,5	37,9	289,6	228,5	108,0	441,9	223,3
17			697,9	82,0	776,0	505,3	1255,7	324,3	670,4	238,4	122,7	84,3	88,4
18				753,1	88,1	103,9	298,7	169,7	228,5	611,3	346,7	1040,4	613,4
19					791,9	652,6	1298,5	407,6	772,5	220,8	153,7	117,9	63,8
20						140,1	113,0	153,4	144,4	679,5	349,2	1075,4	578,6
21							309,1	94,9	112,9	599,2	220,1	773,4	444,8
22								378,0	220,3	1241,7	646,4	1624,1	967,9
23									229,5	319,4	110,6	548,9	255,1
24										886,5	285,4	919,4	501,1
25											318,9	302,9	267,5
26												270,2	67,5
27													125,5
28													
29													
30													
31													
32													
33													
34													
35													
36													
37													
38													
39													
40													

Continua...

Tabela 11. Distância generalizada de Mahalanobis entre 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam. a partir de 19 características de frutos e sementes e de testes de germinação, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica. (Continuação)

Matrizes	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
1	484,9	1485,0	209,9	216,7	57,4	257,0	568,0	235,9	787,2	153,1	347,4	133,7	135,0
2	121,8	419,2	134,2	401,9	352,4	209,4	75,1	185,5	183,8	536,6	243,8	682,6	225,3
3	259,5	1074,3	122,1	222,5	74,6	170,2	321,4	135,9	513,2	230,7	232,3	254,1	103,2
4	247,3	1023,1	122,9	160,9	101,0	124,9	335,5	97,8	378,2	247,5	190,4	291,8	114,4
5	294,5	1224,5	120,6	108,9	27,7	150,5	430,9	130,1	579,8	122,5	162,9	130,3	62,1
6	333,5	1240,5	144,2	70,2	56,2	113,3	454,9	116,1	629,4	79,6	150,9	113,2	67,7
7	358,2	1201,9	114,3	58,8	180,0	142,0	523,5	233,5	645,1	192,4	128,6	125,6	70,3
8	203,7	577,5	57,9	325,1	337,9	191,7	177,0	251,3	335,5	458,5	231,9	485,6	147,7
9	578,4	1605,8	220,1	90,4	136,7	265,6	742,7	319,4	895,2	139,3	290,0	56,9	119,8
10	332,3	1148,0	110,6	97,1	91,1	120,5	409,6	167,4	618,7	127,2	156,2	124,4	48,7
11	496,1	1450,0	164,9	111,9	106,8	202,5	598,1	263,9	823,6	130,0	257,5	51,3	90,1
12	486,9	1558,2	242,7	72,0	209,9	241,3	743,9	351,4	889,5	275,6	175,2	95,7	146,7
13	691,3	1854,5	327,4	117,5	120,0	321,5	862,5	355,3	1052,7	121,9	364,3	35,7	168,0
14	514,2	1530,4	251,5	130,5	58,2	223,3	609,2	203,5	852,0	61,8	286,3	90,0	136,2
15	250,4	235,5	288,0	749,4	721,6	393,0	94,0	422,8	235,1	940,9	487,4	1086,2	484,0
16	301,8	1123,5	122,2	124,2	55,9	125,4	360,9	108,5	572,6	93,7	182,9	155,9	61,7
17	115,8	457,2	153,4	339,3	344,6	111,6	88,5	103,3	158,8	501,5	209,9	673,8	239,1
18	711,8	1845,1	422,8	250,3	171,5	407,2	843,9	376,0	1146,7	60,4	434,1	130,4	248,8
19	91,0	338,6	104,9	350,7	451,5	146,8	93,7	195,6	154,4	545,6	170,5	679,1	209,7
20	736,1	2032,5	401,0	159,7	156,5	401,8	992,2	421,5	1157,9	113,3	385,8	43,3	222,4
21	557,3	1680,6	349,8	155,5	86,3	281,8	716,9	238,8	943,6	121,2	309,6	145,0	199,9
22	1214,3	2832,9	787,3	341,5	431,6	710,7	1599,1	786,9	1718,8	381,8	689,5	157,1	538,7
23	387,8	1352,2	148,2	99,2	44,8	132,1	502,9	150,0	672,0	127,7	212,2	96,5	84,9
24	648,5	1908,3	473,5	135,2	214,2	371,1	963,2	349,7	976,2	203,3	304,8	202,4	296,1
25	275,0	684,3	152,2	465,9	321,0	287,2	198,3	254,2	392,2	427,4	386,0	564,1	227,9
26	153,9	833,5	75,8	80,1	162,5	26,1	267,9	68,1	340,6	237,5	58,2	283,4	69,9
27	102,5	302,0	241,3	516,4	542,5	257,2	91,5	237,4	92,8	761,8	276,1	933,1	368,1
28	71,4	558,8	55,3	187,7	275,6	89,4	160,8	137,4	202,0	444,4	63,5	466,3	115,7
29		404,9	125,9	333,4	385,7	165,1	97,8	163,8	150,0	517,8	102,4	648,8	194,3
30			708,4	1283,1	1365,5	814,1	244,2	824,2	330,4	1525,0	785,0	1851,6	969,5
31				157,0	173,3	99,9	197,1	145,3	338,9	301,5	89,2	297,7	45,0
32					118,5	117,5	542,3	166,4	599,8	162,4	99,8	122,1	66,1
33						203,0	492,8	174,2	704,3	129,4	224,1	123,4	88,3
34							263,6	48,1	307,2	264,0	97,2	332,7	97,2
35								250,0	197,1	653,2	282,9	856,0	315,8
36									278,4	210,2	147,8	385,7	131,8
37										804,4	337,7	1071,2	486,6
38											308,3	146,3	161,2
39												323,2	73,7
40													155,0

Tabela 12. Grupos estabelecidos pelo Método de Otimização de Tocher, com base em 19 características resultantes da avaliação biométrica de frutos e sementes e dos testes de germinação, condutividade elétrica e de envelhecimento acelerado de sementes de 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam.

Grupo	Matriz
I	26, 34, 36, 28, 39, 31, 41, 32, 6, 10, 16, 5, 23, 4, 33, 3, 7, 11, 14, 1, 9, 38, 40, 13, 21, 12 e 20
II	2, 27, 35, 17, 19, 29, 15, 37, 8 e 25
III	22 e 24
IV	18
V	30

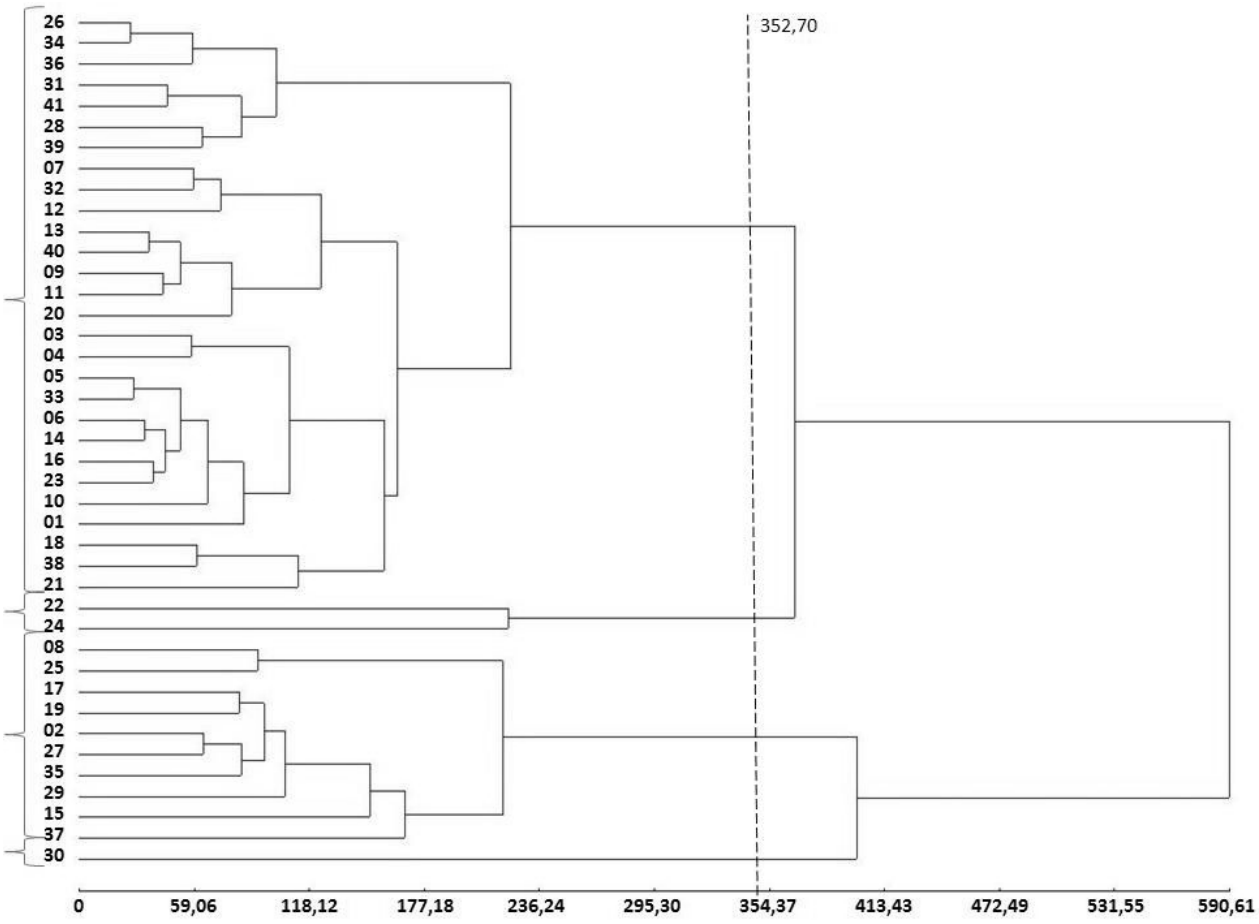

Figura 12. Dendrograma representativo do agrupamento de 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam., baseado em caracteres biométricos de frutos e sementes e parâmetros da qualidade fisiológica das sementes, utilizando o método de agrupamento UPGMA.

bem próximo ao número formado pelo método de Tocher. O primeiro grupo é formado por 28 matrizes, sendo o grupo com o maior número de matrizes, ou seja, com 68,29% das matrizes estudadas. O segundo grupo é formado por 2 matrizes (4,88%); o terceiro grupo é formado por 10 matrizes (24,39%) e o quarto grupo é formado apenas por uma matriz (2,44%).

De acordo com o agrupamento promovido por caracteres biométricos de frutos e sementes e parâmetros da qualidade fisiológica das sementes pelo método de Tocher (Tabela 12) e considerando a localização das árvores matrizes na área de amostragem (Tabela 1), nota-se que a matriz 22, que representa isoladamente o ponto 3 (Figura 5), associou-se à matriz 24 localizada no ponto 4 (Figura 6) formando o grupo III. As demais matrizes localizadas no ponto 4 estão distribuídas nos grupos I (23, 26, 28 e 31), grupo II (25, 27 e 29) e grupo V onde a matriz 30 forma um grupo isolado, o que evidencia uma grande diversidade em relação às demais. O fato dessa variedade de matrizes pertencentes ao mesmo ponto de amostragem estarem distribuídas em grupos distintos indica que árvores situadas próximas entre si podem não apresentar um alto grau de parentesco e, ou similaridade, evidenciando a presença de variabilidade genética. O inverso também se torna verdadeiro, fazendo com que árvores matrizes pertencentes a localidades distintas se unam em um mesmo grupo, como aconteceu com as matrizes 22 e 24.

Essa observação também pode ser feita ao se analisar a constituição dos grupos I e II. O grupo I reúne árvores matrizes localizadas nos pontos 1, 2, 4 e 5 (Figuras 3, 4, 6 e 7 respectivamente), enquanto o grupo II é composto por matrizes amostradas nos pontos 1, 4 e 5. Como as 41 árvores matrizes avaliadas que compõem os cinco pontos de amostragem são originadas de plantios relativamente recentes, ou seja, não são de uma floresta nativa, uma dada variabilidade genética pode ser encontrada dentro de um mesmo ponto de amostragem apesar de haver uma pequena distância entre as plantas. Isso se deve à origem das mudas utilizadas no plantio, onde mudas formadas a partir de sementes coletadas de diferentes árvores matrizes tem uma menor probabilidade de gerar indivíduos aparentados, aumentando a variabilidade genética entre os mesmos. Esse fato também pode fazer com que árvores matrizes próximas a outras dentro de

um ponto de amostragem formem grupos unitários, como ocorreu com as matrizes 18 e 30.

O agrupamento das 41 árvores matrizes promovido pelo método UPGMA por caracteres biométricos de frutos e sementes e parâmetros da qualidade fisiológica das sementes (Figura 12) foi praticamente o mesmo obtido pelo método de Tocher (Tabela 12). A única diferenciação entre eles é que a matriz 18, que no agrupamento de Tocher formava um grupo unitário, no agrupamento UPGMA une-se ao grupo constituído pelo maior número de matrizes.

Em estudo com 20 acessos de *Astrocaryum vulgare* por meio de oito caracteres de frutos, FARIAS NETO & OLIVEIRA (2002), agruparam as matrizes em três grupos pelo método de Tocher.

ARRIEL et al. (2004), estudando a divergência entre 34 matrizes de *Cnidoscolus phyllacanthus* por meio de nove caracteres biométricos de frutos e sementes e seis caracteres bioquímicos de sementes, identificaram a formação de 10 grupos.

A partir de nove caracteres morfológicos de frutos e sementes, avaliados em seis populações de *Dypteryx alata* provenientes dos estados de Goiás e Minas Gerais, SANO et al. (1999) verificaram a formação de cinco grupos. Encontraram, ainda, que árvores próximas nas diferentes localidades apresentaram-se em grupos distintos, indicando a presença de variabilidade genética dentro da população.

Além do estudo da divergência genética, é de grande valia o conhecimento da importância relativa que os caracteres biométricos de frutos e sementes e parâmetros da qualidade fisiológica das sementes desempenham na diversidade encontrada. Isto posto, a importância de cada característica para a divergência genética foi obtida pelo método de SINGH (1981) (Tabela 13).

As características com maiores contribuições relativas para a análise da diversidade das matrizes foram a massa fresca de sementes (38,02%), massa fresca de frutos (18,12%) e comprimento de frutos (8,58%). Já as características que menos contribuíram para a divergência das matrizes foram o comprimento de plântulas (0,39%), o comprimento de plântulas originadas de sementes submetidas ao envelhecimento acelerado (0,42%) e a condutividade elétrica (0,63%).

Tabela 13. Contribuição relativa de 19 características resultantes da avaliação biométrica de frutos e sementes e dos testes de germinação, condutividade elétrica e de envelhecimento acelerado de sementes de 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam.

Características	Importância Relativa (%)
MFS	38,02
MFF	18,12
COMPF	8,58
DIAMF	1,35
GER	4,78
IVG	1,16
PN	2,51
PA	1,48
MFP	3,54
MSP	4,70
CP	0,39
GER-EA	2,33
IVG-EA	1,53
PN-EA	2,31
PA-EA	1,19
MFP-EA	2,93
MSP-EA	4,02
CP-EA	0,42
CE-24h	0,63

MFS – massa fresca de sementes; **MFF, COMPF, DIAMF** – massa fresca, comprimento e diâmetro de frutos; **GER** – germinação; **IVG** – índice de velocidade de germinação; **PN** – plântulas normais; **PA** – plântulas albinas; **MFP, MSP** – massa de matéria fresca e seca de plântulas; **CP** – comprimento de plântulas; **CE-24h** – condutividade elétrica com 24 horas de embebição; **EA** – envelhecimento acelerado.

SANO et al. (1999) estudando a diversidade morfológica de frutos e sementes de *Dypteryx alata*, concluíram que as nove características estudadas foram importantes para a formação dos grupos, porém com destaque para a massa fresca e a largura de frutos e a massa fresca de sementes.

FARIAS NETO & OLIVEIRA (2002) estudando a divergência genética entre 20 acessos de *Astrocaryum vulgare* por meio de oito caracteres de frutos, verificaram que os caracteres que mais contribuíram para a divergência foram a massa de matéria fresca de frutos e de polpa; a espessura da amêndoa foi a característica que menos contribuiu para a variação total.

ARRIEL et al. (2004), estudando a divergência entre 39 matrizes de *Cnidoscolus phyllacanthus* quanto a nove caracteres biométricos de frutos e sementes, concluíram que o comprimento de frutos, o número e massa fresca de sementes por fruto e a massa fresca do pericarpo foram os caracteres mais importantes neste estudo.

4.6.2. Divergência genética através de marcadores moleculares AFLP

Para a análise de agrupamento das 41 árvores matrizes baseado na análise por marcadores moleculares AFLP, a estimativa de medidas de distância entre pares de matrizes foi obtida pelo coeficiente de Nei e Li (Tabela 14). As matrizes com maior similaridade (menor distância) são as matrizes 8 e 16 (0,027) e as mais divergentes (maior distância) são a 21 e a 40 (0,620). A média das distâncias entre as árvores matrizes foi de 0,232.

O agrupamento das árvores matrizes foi realizado utilizando-se o método UPGMA. O dendrograma representativo desse agrupamento está apresentado na Figura 13.

Houve a formação de dez grupos a partir da linha de corte traçada pela estimativa do complemento aritmético médio (0,23), um número consideravelmente maior ao número de grupos formados pelos métodos que levaram em consideração caracteres relativos à biometria de frutos e sementes e parâmetros da qualidade fisiológica das sementes. O primeiro grupo é formado por 30 matrizes, sendo o maior deles, ou seja, com 73,17% das matrizes avaliadas. O segundo, terceiro, quarto e quinto grupos são formados apenas por uma matriz (2,44%); o sexto grupo é formado por 3 matrizes (7,32%) e o sétimo, oitavo, nono e décimo grupos também são unitários (2,44%).

De acordo com esse agrupamento e considerando a localização das matrizes na área de amostragem, percebe-se que a maior parte das matrizes constitui um único grupo, e também que, nesse grande grupo formado, há matrizes provenientes dos cinco pontos distintos de amostragem das mesmas (Figuras 1 e 2).

Tabela 14. Coeficientes de Nei e Li entre 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam. baseados na análise por marcadores moleculares AFLP.

Matrizes	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	0,401	0,307	0,268	0,370	0,371	0,389	0,269	0,265	0,265	0,282	0,293	0,433	0,429	0,277
2		0,200	0,222	0,247	0,201	0,417	0,206	0,206	0,224	0,215	0,236	0,367	0,298	0,207
3			0,104	0,153	0,126	0,258	0,090	0,108	0,094	0,108	0,122	0,336	0,241	0,101
4				0,144	0,119	0,271	0,037	0,057	0,054	0,082	0,084	0,300	0,208	0,037
5					0,094	0,338	0,134	0,149	0,162	0,144	0,170	0,338	0,231	0,151
6						0,300	0,110	0,134	0,131	0,141	0,144	0,354	0,218	0,121
7							0,254	0,305	0,250	0,272	0,257	0,434	0,385	0,255
8								0,054	0,047	0,073	0,081	0,294	0,215	0,034
9									0,063	0,101	0,099	0,310	0,221	0,055
10										0,093	0,090	0,310	0,211	0,052
11											0,109	0,303	0,212	0,084
12												0,307	0,198	0,087
13													0,333	0,290
14														0,199
15														
16														
17														
18														
19														
20														
21														
22														
23														
24														
25														
26														
27														
28														
29														
30														
31														
32														
33														
34														
35														
36														
37														
38														
39														
40														

Continua...

Tabela 14. Coeficientes de Nei e Li entre 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam. baseados na análise por marcadores moleculares AFLP. (Continuação)

Matrizes	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
1	0,259	0,303	0,273	0,310	0,289	0,315	0,278	0,294	0,375	0,260	0,283	0,270	0,302
2	0,208	0,245	0,243	0,216	0,276	0,268	0,208	0,325	0,186	0,254	0,252	0,250	0,244
3	0,087	0,140	0,114	0,098	0,171	0,201	0,101	0,210	0,145	0,148	0,151	0,179	0,164
4	0,034	0,101	0,068	0,087	0,099	0,109	0,042	0,149	0,147	0,098	0,090	0,131	0,113
5	0,137	0,190	0,172	0,094	0,217	0,232	0,130	0,267	0,222	0,198	0,207	0,228	0,187
6	0,107	0,151	0,141	0,086	0,189	0,208	0,101	0,224	0,162	0,181	0,179	0,198	0,170
7	0,256	0,286	0,226	0,287	0,214	0,391	0,263	0,235	0,308	0,295	0,267	0,387	0,318
8	0,027	0,092	0,055	0,084	0,096	0,122	0,039	0,140	0,137	0,090	0,092	0,128	0,109
9	0,047	0,100	0,087	0,102	0,125	0,120	0,065	0,160	0,169	0,097	0,111	0,137	0,134
10	0,044	0,107	0,068	0,093	0,100	0,143	0,057	0,145	0,159	0,099	0,112	0,138	0,109
11	0,076	0,148	0,091	0,112	0,147	0,153	0,090	0,190	0,193	0,129	0,143	0,171	0,151
12	0,078	0,124	0,110	0,105	0,139	0,168	0,082	0,176	0,168	0,143	0,141	0,180	0,159
13	0,309	0,311	0,305	0,318	0,385	0,380	0,304	0,345	0,279	0,347	0,318	0,354	0,331
14	0,217	0,249	0,234	0,201	0,286	0,265	0,206	0,316	0,255	0,245	0,249	0,280	0,260
15	0,031	0,093	0,060	0,090	0,101	0,122	0,044	0,141	0,144	0,095	0,072	0,134	0,115
16		0,084	0,052	0,076	0,098	0,119	0,032	0,131	0,140	0,061	0,084	0,103	0,106
17			0,116	0,127	0,152	0,186	0,098	0,149	0,164	0,128	0,120	0,182	0,150
18				0,102	0,104	0,158	0,070	0,133	0,170	0,113	0,106	0,148	0,108
19					0,153	0,171	0,085	0,202	0,160	0,146	0,149	0,172	0,129
20						0,197	0,112	0,159	0,215	0,154	0,141	0,198	0,143
21							0,134	0,250	0,242	0,166	0,175	0,171	0,184
22								0,152	0,139	0,096	0,088	0,140	0,116
23									0,234	0,186	0,172	0,228	0,199
24										0,201	0,176	0,225	0,191
25											0,139	0,139	0,163
26												0,176	0,128
27													0,168
28													
29													
30													
31													
32													
33													
34													
35													
36													
37													
38													
39													
40													

Continua...

Tabela 14. Coeficientes de Nei e Li entre 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam. baseados na análise por marcadores moleculares AFLP. (Continuação)

Matrizes	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
1	0,363	0,336	0,316	0,286	0,354	0,391	0,301	0,342	0,285	0,305	0,417	0,610	0,341
2	0,234	0,352	0,347	0,223	0,420	0,476	0,382	0,243	0,271	0,309	0,392	0,523	0,448
3	0,176	0,217	0,260	0,153	0,270	0,347	0,242	0,152	0,152	0,252	0,237	0,470	0,303
4	0,149	0,198	0,209	0,088	0,252	0,342	0,192	0,116	0,143	0,159	0,263	0,527	0,277
5	0,230	0,302	0,323	0,175	0,349	0,467	0,303	0,209	0,241	0,294	0,193	0,432	0,338
6	0,182	0,255	0,288	0,153	0,344	0,465	0,288	0,175	0,199	0,273	0,226	0,455	0,353
7	0,290	0,252	0,267	0,333	0,333	0,274	0,311	0,331	0,214	0,336	0,256	0,487	0,375
8	0,145	0,182	0,193	0,090	0,235	0,329	0,199	0,118	0,134	0,166	0,240	0,504	0,265
9	0,171	0,205	0,216	0,097	0,261	0,346	0,216	0,121	0,165	0,176	0,284	0,537	0,286
10	0,151	0,194	0,200	0,109	0,237	0,307	0,194	0,134	0,128	0,177	0,248	0,513	0,262
11	0,167	0,225	0,249	0,129	0,265	0,374	0,237	0,144	0,172	0,219	0,258	0,514	0,297
12	0,170	0,217	0,253	0,143	0,275	0,338	0,229	0,152	0,158	0,211	0,274	0,496	0,308
13	0,359	0,391	0,395	0,327	0,462	0,396	0,471	0,359	0,378	0,417	0,488	0,551	0,494
14	0,264	0,370	0,380	0,264	0,353	0,450	0,338	0,266	0,307	0,313	0,346	0,465	0,371
15	0,151	0,189	0,194	0,095	0,254	0,331	0,200	0,124	0,134	0,156	0,260	0,507	0,273
16	0,137	0,179	0,201	0,087	0,238	0,325	0,201	0,110	0,120	0,174	0,249	0,505	0,267
17	0,201	0,201	0,226	0,144	0,272	0,322	0,256	0,171	0,183	0,225	0,278	0,488	0,299
18	0,144	0,183	0,182	0,119	0,244	0,322	0,206	0,144	0,127	0,171	0,231	0,519	0,281
19	0,168	0,244	0,281	0,146	0,285	0,397	0,263	0,150	0,144	0,214	0,222	0,455	0,305
20	0,171	0,200	0,194	0,143	0,233	0,294	0,169	0,181	0,124	0,188	0,258	0,498	0,220
21	0,232	0,271	0,259	0,149	0,329	0,457	0,304	0,159	0,254	0,172	0,382	0,620	0,392
22	0,141	0,184	0,213	0,090	0,262	0,333	0,213	0,125	0,141	0,179	0,249	0,489	0,280
23	0,206	0,117	0,181	0,169	0,275	0,255	0,277	0,239	0,223	0,225	0,234	0,508	0,331
24	0,179	0,280	0,327	0,184	0,401	0,377	0,340	0,219	0,215	0,285	0,361	0,532	0,405
25	0,181	0,234	0,252	0,136	0,249	0,345	0,240	0,156	0,185	0,221	0,306	0,529	0,288
26	0,167	0,219	0,232	0,139	0,278	0,329	0,232	0,176	0,171	0,207	0,291	0,520	0,299
27	0,222	0,260	0,280	0,178	0,285	0,388	0,268	0,160	0,214	0,247	0,351	0,542	0,313
28	0,170	0,242	0,242	0,136	0,297	0,357	0,261	0,157	0,192	0,217	0,290	0,524	0,325
29		0,244	0,277	0,186	0,315	0,358	0,297	0,198	0,193	0,250	0,295	0,517	0,372
30			0,200	0,222	0,300	0,290	0,295	0,272	0,243	0,239	0,257	0,520	0,382
31				0,234	0,331	0,299	0,303	0,266	0,263	0,213	0,309	0,565	0,356
32					0,293	0,365	0,258	0,156	0,208	0,168	0,287	0,529	0,307
33						0,298	0,245	0,277	0,287	0,306	0,285	0,353	0,186
34							0,339	0,364	0,297	0,364	0,364	0,478	0,316
35								0,273	0,186	0,267	0,316	0,481	0,156
36									0,208	0,216	0,329	0,518	0,324
37										0,236	0,273	0,513	0,240
38											0,312	0,558	0,336
39												0,373	0,325
40													0,388

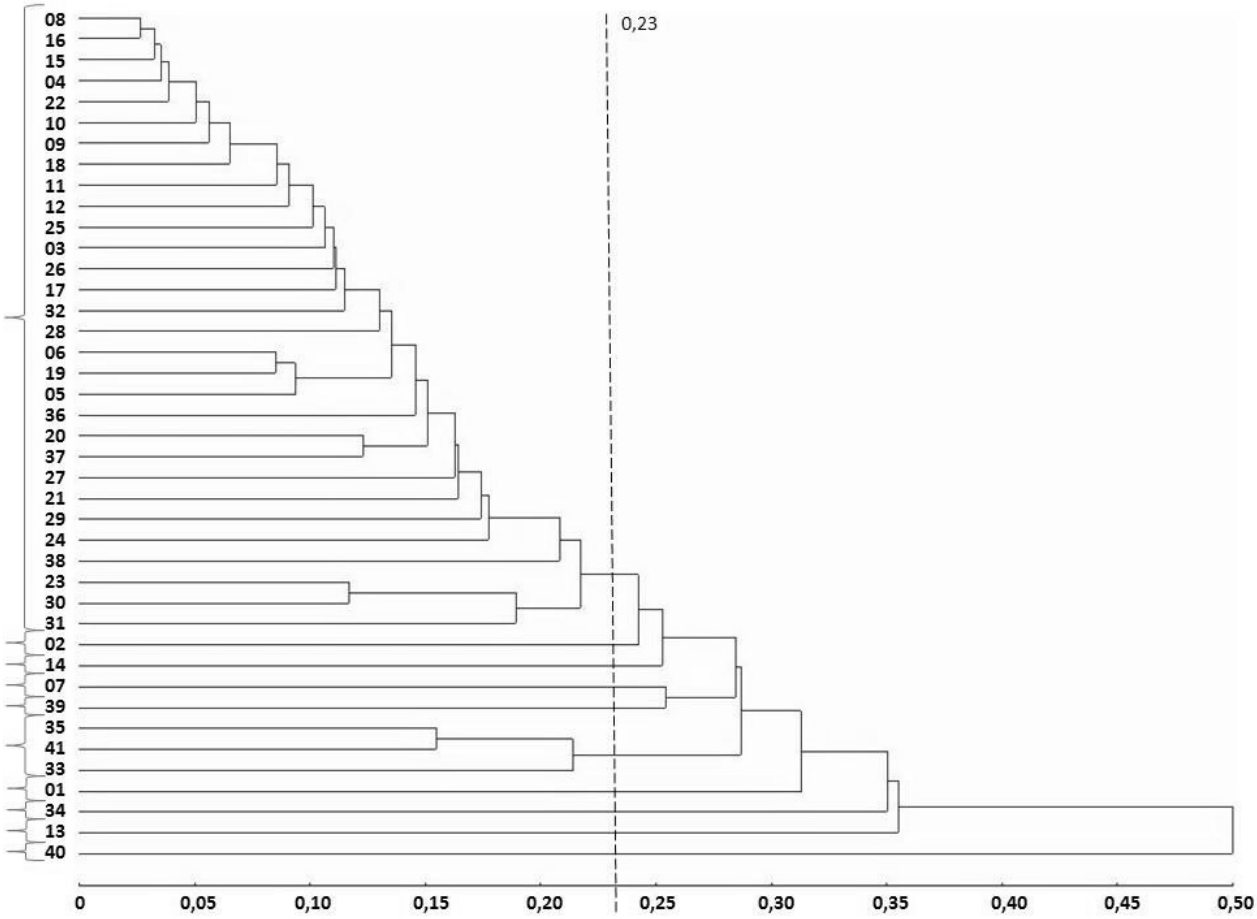

Figura 13. Dendrograma representativo do agrupamento de 41 árvores matrizes de *Guazuma ulmifolia* Lam., baseado na análise por marcadores moleculares AFLP, utilizando o método de agrupamento UPGMA.

Dessa forma, novamente nota-se que matrizes relativamente distantes em termos geográficos se juntam a outras para formarem um grupo com características genéticas similares. Em outras situações ocorre o inverso, em que plantas próximas, situadas em um mesmo local, divergem geneticamente entre si. Isto é verificado ao analisarmos as matrizes 1, 2, 7, 13, 14, 39 e 40; apesar de todas elas estarem localizadas em um mesmo ponto (Figura 3) cada uma constitui um grupo unitário, o que indica uma grande variabilidade genética entre as mesmas.

Estes fatos reforçam ainda mais a preocupação que se deve ter, por exemplo, quando da coleta de sementes para formação de mudas em trabalhos de recomposição e ou conservação e melhoramento genético (PAULA, 2007).

Ausência de estruturação geográfica em relação ao grau de similaridade genética e procedência de acessos também foi obtida por SALLA et al. (2002), estudando a variabilidade genética de *Malpighia emarginata* por marcadores moleculares RAPD e por YEE et al. (1999), analisando diversidade entre acessos de *Vigna angularia* com RAPD e AFLP.

GANGA et al. (2004), avaliando a divergência em 36 acessos de *Passiflora edulis* através de marcadores moleculares AFLP, constataram a eficiência da técnica para a detecção e quantificação de ampla divergência genética entre eles, porém não conseguiram observar correlação entre o grau de similaridade genética e a procedência dos acessos.

SANTOS et al. (2008), estudando a divergência genética de 105 acessos de mangueira através de marcadores moleculares AFLP, conseguiram identificar a formação de cinco grupos entre os materiais avaliados.

4.6.3. Comparação entre a divergência genética por características de frutos e sementes e por marcadores moleculares AFLP

Comparando os agrupamentos promovidos por caracteres biométricos de frutos e sementes e parâmetros da qualidade fisiológica das sementes com aquele promovido pelos marcadores moleculares AFLP, não há como apontar uma relação consistente entre os mesmos.

Algumas matrizes permanecem agrupadas em ambas as situações, por exemplo, as matrizes 3, 4, 5 e 6. Pelo fato dessas matrizes estarem em um mesmo ponto de amostragem e haver pouca distância entre elas (Figura 3), poderia ser um indicativo de uma pequena variabilidade genética entre as mesmas, onde tantos os dados relativos às sementes quanto os moleculares foram capazes de agrupá-las (Figuras 12 e 13). Por outro lado, matrizes que também estão localizadas no mesmo ponto de amostragem e com pouca distância entre as mesmas, se agrupam através dos dados relativos às sementes e não se agrupam pelos dados moleculares, ou vice-versa. Como exemplo, pode-se observar as matrizes 12 e 13 (Figura 3), enquanto no agrupamento

realizado pelos caracteres biométricos de frutos e sementes e parâmetros da qualidade fisiológica de sementes elas estão proximamente agrupadas (Figura 12), no agrupamento feito pelos marcadores moleculares AFLP elas não se agrupam (Figura 13). Já para as matrizes 30 e 31 (Figura 6) ocorre o oposto, elas se agrupam através dos dados moleculares (Figura 13) e não se agrupam pelos dados relativos às sementes e frutos (Figura 12).

Na literatura, algumas considerações vêm sendo apresentadas quando a correlação observada entre distâncias obtidas através de marcadores moleculares e caracteres fenotípicos é baixa. GRIVET & NOYER (2003) consideraram que a relação entre o polimorfismo neutro revelado por marcadores e o polimorfismo de caracteres morfoagronômicos não está clara. Marcadores moleculares revelam a similaridade entre indivíduos pela amostragem do loco. Enquanto caracteres morfoagronômicos medem semelhanças entre indivíduos com base em variáveis, cujo nível de expressão depende do número de genes potencialmente epistáticos.

Segundo ROLDÁN RUIZ et al. (2001), um modo alternativo para lidar com a baixa correlação entre distância genética e morfológica, pode ser selecionar apenas marcadores moleculares associados aos caracteres fenotípicos testados pela distingüibilidade, uniformidade e estabilidade. SEKLON & GUPTA (1995) consideraram que uma perfeita correspondência entre distâncias obtidas a partir de dados fenótipicos e moleculares não é esperada, uma vez que cada grupo de dados representa uma parte diferente do genoma e foi submetido a uma fonte de erro diferente.

MOSER & LEE (1994) ressaltam que o número de marcadores, o tamanho e variabilidade da população analisada são fatores que afetam a distância obtida a partir de dados moleculares e, além disso, como resultado da natureza complexa da relação entre a variação genotípica e fenotípica, genótipos que são fenotipicamente diferentes podem variar em apenas poucos locos, e genótipos similares na aparência ou desempenho podem ser completamente diferentes.

MOURA (2003), avaliando a diversidade genética entre acessos de jaborandi, não encontrou correlação entre as distâncias obtidas com os dados fenotípicos e os dados moleculares.

ARRIEL (2004), estudando a diversidade genética entre 108 genótipos de *Sesamum indicum*, obteve baixa correlação entre marcadores moleculares e caracteres morfológicos e agronômicos. A falta de associação entre caracteres morfoagronômicos e marcadores moleculares tem sido observada em diversas espécies (CAZCARRO, 2000; RIDAY et al., 2003).

Para McKAY & LATTA (2002), marcadores moleculares e caracteres fenotípicos apresentam comportamentos distintos no estudo da divergência, não possibilitando extrapolar uma variação para outra, especialmente, se os caracteres forem quantitativos.

Devido ao fato de os parâmetros de medida utilizados para a estimação das distâncias não se correlacionarem, eles podem ser considerados em conjunto para maximizar o nível de informações em relação aos genótipos, sendo, portanto, informações complementares. Dessa forma, a combinação de diferentes medidas pode melhorar a predição da variabilidade (AUTRIQUE et al., 1996; BERED et al., 2001).

5. CONCLUSÕES

Através do presente estudo pode-se concluir para *Guazuma ulmifolia* Lam. que:

1. Há grande variação entre os caracteres biométricos de frutos e sementes provenientes de diferentes árvores matrizes.
2. Os testes de germinação e envelhecimento acelerado evidenciam a variabilidade na qualidade fisiológica de sementes das árvores matrizes.
3. O teste de condutividade elétrica conduzido com 40 sementes embebidas em 75 mL de água destilada por 24 horas não é eficiente para discriminar as matrizes quanto à qualidade fisiológica das sementes.
4. A análise por marcadores moleculares AFLP foi eficiente para a discriminação das matrizes quanto à variabilidade genética, evidenciando um alto grau de polimorfismo entre os materiais.
5. Não há como apontar uma relação consistente entre os agrupamentos das matrizes por caracteres biométricos de frutos e sementes e parâmetros da qualidade fisiológica de sementes com o da análise por marcadores moleculares AFLP.
6. A combinação das informações provenientes dos caracteres biométricos de frutos e sementes e parâmetros da qualidade fisiológica de sementes com a análise por marcadores moleculares AFLP é útil na maximização do potencial genético do germoplasma avaliado.
7. A obtenção de sementes com o intuito de se realizar trabalhos de conservação, melhoramento genético e recomposição florestal, deve ser realizada no maior número possível de matrizes, de forma a garantir a representatividade da variabilidade genética da espécie.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, R. M. **Caracterização genética de populações de cupuazeiro, *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex. Spreng.) Schum., por marcadores microssatélites e descritores botânico-agronômicos**. Piracicaba, 2002. 146p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

ALVES, R. M.; GARCIA, A. A. G. F.; CRUZ, E. D.; FILGUEIRA, A. Seleção de descritores botânico-agronômicos para caracterização de germoplasma de cupuaçuzeiro, **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v.38, n.7, p.807-818, 2003.

ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; OLIVEIRA, A. P.; ALVES, A. U.; ALVES, A. U.; PAULA, R. C. Influência do tamanho e da procedência de sementes de *Mimosa caesalpiniifolia* Benth. sobre a germinação e vigor. **Revista Árvore**, Viçosa, v.29, n.6, p.877-885, 2005.

AOSA. Association of Official Seed Analysts. **Seed vigor testing handbook.** East lasing: AOSA, 1983. 93p. (Contribution, 32).

ARAÚJO, D. G.; CARVALHO, S. P.; ALVES, R. M. Divergência genética entre clones de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Willd ex Spreng Schum). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.1, p.13-21, 2002.

ARAÚJO, E. C.; MENDONÇA, A. V. R.; BARROSO, D. G.; LAMÔNICA, K. R.; SILVA, R. F. Caracterização morfológica de frutos, sementes e plântulas de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. **Revista Brasileira de Sementes,** Pelotas, v.26, n.1, p.104-109, 2004.

ARAÚJO NETO, J. C. **Caracterização e germinação de sementes e desenvolvimento pós-seminal de mutamba (*Guazuma ulmifolia* Lam.).** 1997. 81p.

Dissertação (Mestrado em Produção e Tecnologia de Sementes) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1997.

ARAÚJO NETO, J. C.; AGUIAR, I. B. Germitative pretreatments to dormancy break in *Guazuma ulmifolia* Lam. seeds. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.58, p.15-24, 2000.

ARAÚJO NETO, J. C.; AGUIAR, I. B.; FERREIRA, V. M.; PAULA, R. C. Caracterização morfológica de frutos, sementes e desenvolvimento pós seminal de Monjoleiro (*Acacia polyphylla* DC.), **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.24, n.1, p.203-211, 2002.

ARRIEL, N. H. C. **Diversidade genética em gergelim (*Sesamum indicum* L.) a partir de marcadores moleculares (RAPD) e caracteres morfológicos e agronômicos.** 2004. 114p. Tese (Doutorado em Agronomia (Produção Vegetal)) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

ARRIEL, E. F.; PAULA, R. C.; BAKKE, O. A.; ARRIEL, N. H. C. Divergência genética em *Cnidoscolus phyllacanthus* (MART.) Pax et K. Hoffm. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas,** Campina Grande, v.8, p.813-822, 2004.

ARRIEL, E. F.; PAULA, R. C.; BAKKE, O. A.; SANTOS, D. R.; ARRIEL, N. H. C. Divergência genética entre matrizes de faveleria usando caracteres biométricos de frutos e sementes. **Caatinga,** Mossoró, v.18, n.4, p.219-225, 2005.

AUTRIQUE, E.; NACHIT. M. M.; MONNEVEUX, P.; TANKSLEY, S. D.; SORRELS, M. E. Genetic diversity in Durum wheat base don RFLPs, morphophysiological traits, and coefficient of parentage. **Crop Science**, Madison, v.36, p.735-742, 1996.

BARBIERI, R. L.; LEITE, D. L.; CHOER, E.; SINIGAGLIA, C. Divergência genética entre populações de cebola com base em marcadores morfológicos. **Ciência Rural,** Santa Maria, v.35, n.2, p.303-308, 2005.

BARBOSA, J. M.; MACEDO, A. C. **Essências florestais nativas de ocorrência no Estado de São Paulo**: informações técnicas sobre sementes, grupo ecológico, fenologia e produção de mudas. São Paulo: Instituto de Botânica e Fundação Florestal, 1993. 125p.

BARROS, L. M. **Caracterização morfológica e isoenzimática do cajueiro (*Anarcadium occidentale* L.), tipos comum e anão-precoce, por meio de técnicas multivariadas**. 1991. 256p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1991.

BARROSO, D. G.; MIRANDA, R. U.; MARINHO, C. S.; TEIXEIRA, M. L. Tratamento pré-germinativo de sementes de 3 espécies nativas da mata de restinga da região de Mataraca, PB. In: CONGRESSO FLORESTAL PANAMERICANO, 1.; CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 7., 1993, Curitiba. **Floresta para o desenvolvimento**: política, ambiente, tecnologia e mercado: anais. São Paulo: Sociedade Brasileira de Silvicultura; [S.l.]: Sociedade Brasileira de Engenheiros Florestais, 1993. v.2, p.476-477.

BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds**: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. London: Academic Press, 1998. 666p.

BERED, F.; BARBOSA-NETO, J. F.; ROCHA, B. M.; CARVALHO, F. I. F. Genetic variability in common wheat base don morphological traits, coefficients of parentage and RAPDs. **Journal of New Seeds**, New York, v.3, n.2, p.73-85, 2001.

BERENGUER, B.; TRABADELA, C.; SANCHEZ-FIDALGO, S.; QUILEZ, A.; MIÑO, P.; DE LA PUERTA, R.; MARTIN-CALERO, M. J. The aerial parts of *Guazuma ulmifolia* Lam. protect against NSAID-induced gastric lesions. **Journal of Ethnopharmacology**, London, v.114, p.153-160, 2007.

BONNER, F. T. Testing tree seeds for vigor: a review. **Seed Technology,** Lawrence, v.20, n.1, p.5-17, 1998.

BORGES, A. S.; KAGEYAMA, P. Y.; GERES, W. L. A. Melhoramento genético de *Guazuma ulmifolia* Lam., uma espécie arbórea pioneira nativa. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 46., 1995, Ribeirão Preto. **Resumos.** Ribeirão Preto: FFCLRP - Universidade de São Paulo, 1995. p.229

BORGES, E. E. L.; RENA, A. B. Germinação de semente. In: AGUIAR, I. B.; PINÃ - RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B (Coord). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES,1993. p.83-136.

BOTEZELLI, L.; DAVIDE, A. C.; MALAVASI, M. M. Características dos frutos e sementes de quatro procedêcnias de *Dipteryx alata* Vogel. (baru). **Cerne**, Lavras, v.6, n.1, p.9-18, 2000.

BRANDÃO, M.; GAVILANES, M. L. Mais uma contribuição para o conhecimento da cadeia do Espinhaço em Minas Gerais (Serra da Piedade) - II. **Daphne**, Belo Horizonte, v.1, n.1, p.26-43, 1990.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLV, 1992. 365p.

BRINA, A. E. **Aspectos da dinâmica da vegetação associada a afloramentos calcários na APA Carste de Lagoa Santa, MG**. 1998. 105p. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais,Belo Horizonte, 1998.

CARVALHO, N. M. Vigor de Sementes. In: CÍCERO, S.M.; MARCOS FILHO, J.; SILVA, W.R. (Coord.). **Atualização em Produção de Sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.207-223.

CARVALHO, D. A.; OLIVEIRA FILHO, A. T.; VILELA, E. A. Florística e fitossociologia da vegetação arbóreo-arbustiva de floresta ripária decídua do Baixo Paranaíba (Santa Vitória, Minas Gerais). **Revista Árvore**, Viçosa, v.23, n.3, p.311-320, 1999.

CARVALHO, L. R. **Classificação fisiológica de sementes de espécies florestais quanto à capacidade de armazenamento**. 2000. 97p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes:** ciência, tecnologia e produção. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CARVALHO, P. E. R. **Mutamba (*Guazuma ulmifolia*)**. Embrapa, Colombo, 2007. 13p. (Circular técnica, 141)

CASTELLANI, E. D. **Caracterização e ecofisiologia de sementes de três espécies arbóreas do gênero *Solanum* L.** 2003. 200p. Tese (Doutorado em Produção e Tecnologia de Sementes) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

CAZCARRO, P. R. **Differentiating *Medicago sativa* subsp. *sativa* and *falcata* using molecular markers**. 2000. 56p. Masters Thesis, Iowa State University, Ames, Iowa, 2000.

CATIE. Centro Agronômico Tropical de Investigación y Enseñanza. Departamento de Recursos Naturales Renovables. **Silvicultura de espécies promisorias para**

producción de leña em America Central: resultados de cinco años de investigación. Turrialba, 1986. 250p. p.171-175.

COSTA, P.; POT, D.; DUBOS, C.; FRIGERIO, J. M.; PIONNEAU, C.; BODENES, C.; BERTOCCHI, E.; CERVERA, M.-T.; RMINGTON, D. L.; PLOMION, C. A genetic map of Maritime pine based on AFLP, RAPD and protein markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.100, p.39-48, 2000.

CRESTE, S.; TULMANN NETO,A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by siler stining. **Plant Molecular Biology Reporter**, Canadá, v.19, p.299-306, 2001.

CRUZ, C. D. A informática no melhoramento genético. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES ILGLIS, M. C. **Recursos genéticos e melhoramento**: plantas. Rondonópolis: Fundação MT, p.1085-1118, 2001a.

CRUZ, C. D. **Programa GENES:** versão Windows; aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 2001b. 648p.

CRUZ, E. D.; MARTINS, F. O.; CARVALHO, J. E. U. Biometria de frutos e sementes de jatobá-curuba (*Hymenaea intermedia* Ducke, Leguminosae Caesalpinioideae), **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.24, p.161-165, 2001.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** v.2, Viçosa: UFV, 2003, 585p.

CRUZ, E. D.; CARVALHO, J. E. U. Biometria de frutos e sementes e germinação de curupixá (*Micropholis* cf. *venulosa* Mart. & Eichler – Sapotaceae). **Acta Amazônica**, Manaus, v.33, n.3, p.389-398, 2003.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2004. 480p.

DEUS, C. E.; WEIGAND JUNIOR, R.; KAGEYAMA, P. Y.; VIANA, V. M.; FERRAZ, P. de A.; BORGES, H. B. N.; ALMEIDA, M. C.; SILVEIRA, M.; VICENTE, C. A. R. **Comportamento de 28 espécies arbóreas tropicais sob diferentes regimes de luz em Rio Branco, Acre**. Rio Branco: Universidade Federal do Acre, 1993. 170p.

DIAS, L. A. S. **Divergência genética e fenética multivariada na predição de híbridos e preservação de germoplasma de cacau (*Theobroma cacao* L.)**. 1994. 94p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1994.

DIAS, L. A. S.; KAGEYAMA, P. Y.; CASTRO, G. C. T. Divergência genética multivariada na preservação de germoplasma de cacau (*Theobroma cacao* L.). **Agrotrópica,** Ilhéus, v.9, n.1, p.29-40, 1997.

DONADIO, N. M. M.; DEMATÊ, M. E. S. P. Caracterização morfológica de frutos, sementes e plântulas de Sapuva (*Machaerium stipitatum* (DC.) Vog) – Fabaceae, **Revista Brasileira de Sementes**, Campinas, v.22, n.1, p.193-199, 2000.

DURIGAN, G.; FIGLIOLIA, M. B.; KAWABATA, M.; GARRIDO, M. A. de O.; BAITELLO, J. B. **Sementes e mudas de árvores tropicais**. São Paulo: Páginas & Letras, 1997. 65p.

EDWARDS, D. G. W. Forest tree seeds at the end of the 20th century: major accomplishments and needs. In: KRISHNAPILLAY, B.; SOEPADMO, E.; ARSHAD, N. L.; WONG, A.; APPANAH, S.; CHIK, S. W.; MANOKARAN, N.; TONG, H. L.; CHOON, K. K. (Eds.). **International Union of Forestry Research Organization**, IUFRO, Kuala Lumpur, Malaysia, IUFRO WORLD CONGRESS, v.21, n.1, p.54. 2000.

FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Tradução por SILVA, M. A. ; SILVA.J. C. Viçosa: UFV, 1987. 279p.

FARIAS NETO, J. T.; OLIVEIRA, M. S. P. Divergência genética entre acessos de tucumanzeiro (*Astrocarym vulgare* Mart.) para caracteres do fruto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, XVII., Belém, 2002. **Anais...** Belém: SBF, 2002.

FERNANDES, T. T.; SANTOS, A. T. F.; PIMENTA, F. C. Atividade antimicrobiana das plantas *Plathymenia reticulata***,** *Hymenaea courbaril e Guazuma ulmifolia.* **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v.34, n.2, p.113-122, 2005.

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

FERRETTI, A. R.; KAGEYAMA, P. Y.; ÁRBOCZ, G. F.; SANTOS, J. D.; BARROS, M. I .A.; LORZA, R. F.; OLIVEIRA, C. Classificação das espécies arbóreas em grupos ecológicos para revegetação com nativas no Estado de São Paulo. **Florestar Estatístico**, São Paulo, v.3, n.7, p.73-77, 1995.

FIGLIOLIA, M. B; OLIVEIRA, E. C; PINÃ-RODRIGUES, F. C. M. Análise de sementes In: AGUIAR, I. B.; PINÃ -RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (Coord). **Sementes Florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993, p.137-174.

FONSECA, A. F. A.; SEDIYAMA, T.; CRUZ, C. D.; SAKAIYAMA, N. S.; FERRÃO, M. A. G.; FERRÃO, R. G.; BRAGANÇA, S. M. Divergência genética em café conilon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, p.599-605, 2006.

FONSECA, N. R. **Qualidade fisiológica e desempenho agronômico de soja em função do tamanho das sementes.** 2007. 68p. Tese (Doutorado em Agronomia (Agricultura)) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

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

GALINA K. J.; SAKURAGUI C. M.; BORGUEZAM ROCHA J. C.; LORENZETTI E. R.; PALAZZO DE MELLO J. C. Contribuição ao Estudo Farmacognóstico da mutamba *(Guazuma ulmifolia* - Sterculiaceae). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, Buenos Aires, v.24, n.2, p.225-233, 2005.

GANGA, R. M. D.; RUGGIERO, C.; LEMOS, E. G. M.; GRILI, V. G.; GONÇALVES, M. M.; CHAGAS, E. A.; WICKERT, E. Diversidade genética em maracujazeiro-amarelo utilizando marcadores moleculares fAFLP. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.3, p.494-498, 2004.

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 14. ed. Piracicaba: Ed. Nobre, 2000. 477p.

GONÇALVES, E. P.; PAULA, R. C.; DEMATTÊ, M. E. S. P. Testes de vigor em sementes de *Guazuma ulmifolia* Lam. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.29, n.2, p.265-276, 2008.

GONÇALVES, E. P.; PAULA, R. C.; DEMATTÊ, M. E. S. P.; SILVA, M. A. D. Potencial fisiológico de sementes de mutambo (*Guazuma ulmifolia* Lam.) em diferentes procedências. **Revista Caatinga,** Mossoró, v.22, n.2, p.218-222, 2009.

GREEF, B.; TRIEST, L.; CUYPER, B.; SLYCKEN, J. Assessment of intraspecific variation in half sibs of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. 'plus' trees. **Heredity**, Oxford, v.81, p.284-290, 1998

GRIVET, L.; NOYER, J. L. Biochemical and molecular markers. In: (P. Hamon, M. Seguin, X. Perrier, and J.C. Glazmann, (eds). Genetic **Diversity of Tropical Crops**, Montpellier, France, and Enfield, New Hampshire: CIRAD & Science Publishers Inc, p.1-17, 2003.

GRODZICKER, T.; WILLIAMS, J.; SHARP, P.; SAMBROOK, J. Physical mapping of temperatures-sensitive mutations of adenoviruses. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, New York, v. 39, p.439-446, 1974.

GUARIM NETO, G. Plantas do Brasil: angiospermas do Estado de Mato Grosso-I. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v.36, n.59, p.105-121, 1984.

GUSMÃO, E.; VIERA, F. A.; FONSECA JUNIOR, E. M. Biometria de frutos e endocarpos de murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich. Ex A. Juss.). **Revista Cerne,** Lavras, v.12, n.1, p.84-91, 2006.

HAMPTON, J. G.; TEKRONY, D. M. (Ed.) **Handbook of vigour test methods.** Zurich: The International Seed Testing Association. 3. ed. 1995. 117p.

HOEZEL, A. R.; GREEN, A. PCR protocols and population analysis by direct DNA sequencing and PCR-based DNA fingerprinting. In: HOELZEL, A. R. (Ed.) **Molecular genetic analysis of populations - A practical approach**. 2. ed. New York: Oxford University Press, 1998. p.201-235.

JOHNSON, J.; TARIMA, J. M. **Seleccion de especies para uso en cortinas rompevientos en Santa Cruz, Bolivia**. Santa Cruz: CIAT / MBAT, 1995. 83 p. (CIAT / MBAT. Informe Tecnico, 24).

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

KARP, A.; SEBERG, O.; BUIATTI, M. Molecular techniques in the assessment of botanical diversity. **Annals of Botany**, Oxford, v.78, n.2, p.143-149, 1996.

KUHLMANN, M.; KUHN, E. **A flora do Distrito de Ibiti**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1947. 221 p.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: OEA, 1983. 174p.

LITTLE JR., E. H., WADSWORT, F. H. **Common trees of Puerto Rico and Virgin Islands**. Washington, 1969. 460p.

LIU, B. H. **Statistical genomics:** linkage, mapping and QTL analysis. New York: CRC Press, 611p. 1998.

LODHI, M. A.; YE, G.; WEEDEN, N. F.; REISCH, B. I. A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars and Vitis species. **Plant Molecular Biology Reporter**, Dordrecht, v.12, n.1, p.6-13, 1994.

LOPES, R.; LOPES, M. T. G.; OLIVEIRA, A. V.; CAMARGO, L. E. A.; FUNGARO, M. H. P.; CARNEIRO, M. S.; VIEIRA, M. L. C. Marcadores Moleculares Dominantes (RAPD e AFLP). **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, n.29, p.56-60, 2002.

LOPES, G. C.; ROCHA, J. C. B.; ALMEIDA, G. C.; MELLO, J. C. P. Condensed Tannins from the Bark of *Guazuma ulmifolia* Lam. (Sterculiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v.20, n.6, p.1103-1109, 2009.

LOPEZ, J. A.; LITTLE JUNIOR, E. L.; RITZ, G. F.; ROMBOLD, J. S.; HAHN, W. J. **Arboles comunes del Paraguay**: ñande yvyra mata kuera. Washington: Cuerpo de Paz, 1987. 425 p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras:** manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. v.1, 343p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

McKAY, J. K.; LATTA, R. G. Adaptative population divergence: markers, QTL and traits. **Trends in Ecology and Evolution**, London, v.17, n.6, p.285-291, 2002.

MAGOS, G. A.; MATEOS, J. C.; PAEZ, E.; FERNANDEZ, G.; LOBATO, C.; MARQUEZ, C.; ENRIQUEZ, R. G. Hypotensive and vasorelaxant effects of the procyanidin fraction from *Guazuma ulmifolia* bark in normotensive and hypertensive rats. **Journal of Ethnopharmacology**, London, v.117, p.58-68, 2008.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MARCHI, J. L; CICERO, S. M. Procedimentos para a condução do teste de condutividade elétrica em sementes. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.12, n.1,2,3, p.20-27, 2002.

MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S. M.; SILVA, W. R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 237p.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999a. p.3.1-3.24.

MARCOS FILHO, J. Testes de Vigor: Importância e Utilização. In: KRZYZANOWSKI, F. C., VIEIRA, R. D., FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999b. p.1.1-1.21.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas.** Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MARTEL, J. H. I.; FERRAUDO, A. S.; MÔRO, J. R.; PERECIN, D. Estatística multivariada na discriminação de raças amazônicas de pupunheiras (*Bactris gasipaes* Kunth.) em Manaus. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.1-9, 2003.

MARTINELLO, G. E.; LEAL, N. R.; JÚNIOR, A. T. A.; PEREIRA, M. G.; DAHER, R. F. Divergência genética em acessos de quiabeiro com base em marcadores morfológicos. **Horticultura Brasileira,** Brasília, v.20, n.1, p.52-58, 2002.

MARTINS, M. A. G.; OLIVEIRA, D. M. T. Morfo-anatomia e ontogênese do fruto e da semente de *Tipuana tipu* (Benth.) Okunntze (Fabaceae). **Revista Brasileira de Botânica,** São Paulo, v.24, n.1, p.109-121, 2001.

MELO, W. M. C.; PINHO, R. G. V.; SANTOS, J. B.; FERREIRA, D. F. Utilização de caracteres morfoagronômicos e marcadores moleculares para a avaliação da

divergência genética entre híbridos de milho. **Revista Ceres**, Viçosa, v.48, n.276, p.195-207, 2001.

MELO, M. G. G; MENDONÇA, M. S; MENDES, A. M. S. Análise morfológica de sementes, germinação e plântulas de jatobá (*Hymenaea intermedia* Ducke var. *adenotricha* (Ducke) Lee & Lang.) (Leguminosae-caesalpinioideae), **Acta Amazônica**, Manaus, v.34, n.1, p.9-14, 2004.

MELO, M. F. F; VARELA, V. P. Aspectos morfológicos de frutos, sementes, germinação e plântulas de duas espécies florestais da Amazônia. I *Dinizia excelsa* Ducke (angelim-pedra). II *Cedrelinga catenaeformis* Ducke (cedrorana) – Leguminosae: Mimosoideae,. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.28, n.1, p.34-62, 2006.

MILACH, S. C. K. Marcadores de DNA. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v.5, p.14-17, 1998.

MOREIRA CONEGLIAN, I. R; OLIVEIRA, D. M. T. Anatomia comparada dos limbos cotiledonares e eofilares de dez espécies de Caesalpinioideae (Fabaceae), **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.29, n.2, p.193-207, 2006.

MORELLATO, L. P. C. **Estudo da fenologia de árvores, arbustos e lianas de uma floresta semi-decídua no sudeste do Brasil**. 1991. 176p. Tese (Doutorado em Biologia) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1991.

MOSER H.; LEE M. RFLP variation and genealogical distance, multivariate distance, heterosis and genetic variance in oats. **Theoretical and Applied Genetics,** Berlin, v.87, p.947-956, 1994.

MOURA, W. M.; CASALI, V. W. D.; CRUZ, C. D.; LIMA, P. C. Divergência genética em linhagens de pimentão em relação à eficiência nutricional de fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v.34, p.217-224, 1999.

MOURA, E. F. **Divergência genética entre acessos de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*)**. 2003. 75p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

MULLIS, K.; FALOONA, F. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase catalyzed chain reaction. **Methods in Enzymology**, New York, v.155, p.335-350,1987.

MULUVI, G. M.; SPRENT, J. I.; SORANZO, N. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis of genetic variation in *Moringa oleifera* Lam. **Molecular Ecology**, Oxford, v.8, p.463-470, 1999.

NISIZAKI, S. M. A.; ZANGARO FILHO, W. Efeitos da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares indígenas, no desenvolvimento de 12 espécies arbóreas nativas da bacia do Rio Tibagi, PR. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 47, 1996. Nova Friburgo. **Resumos**. Rio de Janeiro: Sociedade Botânica do Brasil, 1996. p.385.

N'GORAN, J. A. K.; LAURENT, V.; RISTERUCCI, A. M.; LANAUD, C. Comparative genetic divertisy studies of *Theobroma cacao* L. using RFLP and RAPD markers. **Heredity**, Oxford, v.73, n.6, p.589-597, 1994.

OLIVEIRA, D. M. T. **Análise morfológica comparativa de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de 30 espécies de Fabaceae ocorrentes no Estado de São Paulo**. 1997. 212 p., Tese (Doutorado em Biologia Vegetal), Universidade Estadual Paulista, Rio Claro. 1997.

OLIVEIRA, M. S. P.; FERREIRA, D. F.; SANTOS, J. B. Seleção de descritores para caracterização de germoplasma de açaizeiro para produção de frutos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v.41, n.7, p.1133-1140, 2006.

PAIVA, D. Q.; GARCIA, Q. S. Germinação de sementes de *Guazuma ulmifolia* Lam. (Sterculiaceae). In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 50., 1999, Blumenau. **Programas e Resumos**. Blumenau: Sociedade Botânica do Brasil / Universidade Regional de Blumenau, 1999. p.130.

PAIVA SOBRINHO, S.; SIQUEIRA, A. G. Caracterização morfológica de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de mutamba (*Guazuma ulmifolia* Lam. – Sterculiaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v.30, n.1, p.114-120, 2008.

PARKER, P. G.; SNOW, A. A.; SCHUG, M. D.; BOOTON, G. C.; FUREST, P. A. What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. **Ecology**, Washington, v.79, p.361-382, 1998.

PAULA. R. C. **Repetibilidade e divergência genética entre matrizes de *Pterogyne nitens* Tul. (Fabaceae – Caesalpinioideae) por caracteres biométricos de frutos e de sementes e parâmetros da qualidade fisiológica de sementes**. 2007. 128 p. Tese (Livre-Docência em Silvicultura) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

PEDRON, F. A.; MENEZES, J. P.; MENEZES, N. L. Parâmetros biométricos de fruto, endocarpo e semente de butiazeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.2, p.585-586, 2004.

PEREIRA, V. A. **Utilização de análise multivariada na caracterização de germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz.)**. 1989. 180p. Tese

(Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1989.

PEREIRA, F. H. F.; PUIATTI, M.; MIRANDA, G. V.; SILVA, D. J. H.; FINGER, F. L. Divergência genética entre acessos de taro utilizando caracteres qualitativos de inflorescência. **Horticultura Brasileira,** Brasília, v.21, n.3, p.520-524, 2003.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; AGUIAR, I. B. Maturação e dispersão de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, I. B.; FIGLIOLIA, M. B. **Sementes florestais tropicais.** Brasília: ABRATES, 1993. p.215-274.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. **Genética na agropecuária.** Lavras, UFLA. 2000. 472p.

RAMOS, N. P.; ARAÚJO, M. G.; BRANDÃO, M.; CARVALHO, P. G. S.; FONSECA, M. B.; CÂMARA, E. M. V. C.; LESSA, L. G.; MELLO, H. E. S..; CÂMARA, B. G. O. Inter-relações solo, flora e fauna da Bacia do Rio Pardo Grande, **Daphne**, Belo Horizonte, v.1, n.3, p.13-16, 1991.

RAMOS, N. P.; FLOR, E. P. O.; MENDONÇA, E. A. F.; MINAMI, K. Envelhecimento acelerado em sementes de rúcula (*Eruca sativa* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.26, n.1, p.98-103, 2004.

RAO, C. R. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: Wiley, 1952. 390p.

RATTER, J. A.; ASKEW, G. P.; MONTGOMERY, R. F.; GIFFORD, D. R. Observations on forest of some mesotrophic soils in central Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, n.1, p.47-58, 1978.

REIF, J. C.; MELCHONGER, A. E.; FRISCH, M. Genetical and mathematical properties of similarity and dissimilarity coefficients applied in plant breeding and seed bank management. **Crop Science**, Madison, v.45, n.1, p.1-7, 2005.

RIBEIRO, N. D.; STORCK, L. Escolha de genitores de feijoeiro por meio da dissimilaridade genética. **Revista Brasileira de Agrociência,** Pelotas, v.8, n.2, p.89-95, 2002.

RIBEIRO, M. M.; MARIETTE, S.; VENDRAMIN, G. G.; SZMIDT, A. E.; PLOMION, C.; KREMER, A. Comparison of genetic diversity estimates within and among populations of maritime pine using chloroplast simple-sequence repeat and amplified fragment length polymorphism data. **Molecular Ecology**, Oxford, v.11, p.860-877, 2002

RIDAY, H.; BRUMMER, E. C.; CAMPBELL, T. A.; LUTH, D.; CAZCARRO, P. M. Comparisons of genetic and morphological distance with heterosis between *Medicago sativa* subsp*. sativa* and subsp. *falcata*. **Euphytica**, Netherlands, v.131, p.37-45, 2003.

ROLDÁN RUIZ, I.; EUWIJK, F. A. VAN.; GILLILAND, T. J; DUBREUIL, P.; DILLMANN, C.; LALLEMAND, J.; LOOSE, M.; BARIL, C. P. A comparative study of molecular and morphological methods of describing relationships between perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) varieties. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.103, p.1138-1150, 2001.

SAIKI, R. K.; GELFAND, D. H.; STOEFFEL, S.; SHCARF, S. J.; HIGUCHI, G.; HORN, G. T.; MULLIS, K. B.; ERLICH, H. A. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science**, Washington, n.4839, v.239, p. 487-491, 1988.

SALLA, M. F. S; RUAS, C. F.; RUAS, P. M.; CARPENTIERI-PÍPOLO, V. Uso de marcadores moleculares na análise da variabilidade genética em acerola (*Malpighia*

emarginata D. C.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, p.15-22, 2002.

SAMBROOK, J.; MANIATIS, T.; FRITSH, E. F. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2.ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.

SAMPAIO, N. V.; SAMPAIO; T. G.; DURÁN, J. M. Avaliação da qualidade de sementes através da condutividade elétrica dos exsudatos de embebição. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.5, n.3, p.39-52, 1995.

SANO, S. M.; VIVALDI, L. J.; SPEHAR, C. R. Diversidade morfológica de frutos e sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.) **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.4, p.513-518, 1999.

SANTOS, N. Fenologia. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v.31, n.50, p.223-226, 1979.

SANTOS, R. C.; FALEIRO, F. G.; LOPES, U. V.; YAMADA, M. M.; PIRES, J. L.; BAHIA, R. C. S.; GOMES, L. M. C.; ARAÚJO, I. S.; FALEIRO, A. S. G.; GRAMACHO, K. P.; MELO, G. R. P.; MONTEIRO, W. R.; VALLE, R. R. M. Caracterização de variedades clonais de *Theobroma cacao* L. com base em marcadores RAPD, AFLP e microssatélites. **Agrotrópica**, Ilhéus, v.13, n.2, p.79-89, 2001.

SANTOS, C. A. F.; LIMA NETO, F. P.; RODRIGUES, M. A.; COSTA, J. G. Similaridade genética de acessos de mangueira de diferentes origens geográficas avaliadas por marcadores AFLP. **Revista Brasileira de Fruticultura,** Jaboticabal, v.30, n.3, p.736-740, 2008.

SANTOS, F. S.; PAULA, R. C.; SABONARO, D. Z.; VALADARES, J. Biometria e qualidade fisiológica de sementes de diferentes matrizes de *Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex A. DC.) Standl. **Scientia Forestalis,** Piracicaba, v.37, n.82, p.163-173, 2009.

SEKHON, M. S.; GUPTA, V. P. Genetic distance and heterosis in Indian mustard: developmental isozymes as indicators of genetic relationships. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.91, p.1148-1152, 1995.

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

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon,** Vienna, v.11, p.33-40, 1962.

SOUSA, N. R.; RODRIGUES, D. P.; CLEMENT, C. R.; NAGAO, E. O.; ASTOLFI-FILHO, S. Discriminação de raças primitivas de pupunha (*Bactris gasipaes*) na Amazônia brasileira por meio de marcadores moleculares (RAPDS). **Acta Amazônica**, Manaus, v.31, n.4, p.539-545, 2001.

SOUSA, N. R. **Variabilidade genética e estimativas de parâmetros genéticos em germoplasma de guaranazeiro**. 2003. 99p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

SOUZA, M. I. F. **Análise da diverside genética de populações de Araucaria angustifolia (Bertol.) Kuntze utilizando marcador AFLP**. 2006, 97p., Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas (Genética)), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

SOTO GONZALES, J. L.; PAULA, R. C.; VALERI, S. V. Teste de condutividade elétrica em sementes de A*lbizia hassleri* (Chodat) Burkart. Fabaceae-Mimosoideae **Revista Árvore**, Viçosa, v.33, n.4, p.625-634, 2009.

SUDRÉ, C. P.; RODRIGUES, R.; RIVA, E. M.; KARASAWA, M.; AMARAL JUNIOR, A. T. Divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão utilizando técnicas multivariadas. **Horticultura Brasileira,** Brasília, v.23, n.1, p.22-27, 2005.

TELLES, M. P. C.; SILVA, R. S. M.; CHAVES, L. J.; COELHO, A. S. G.; DINIS FILHO, J. A. Divergência entre subpopulações de cagaiteira (*Eugenia dysenterica*) em resposta a padrões edáficos e distribuição espacial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v.36, n.11, p.1387-1394, 2001.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium:** compêndio de fitoterapia. 3. ed. Curitiba: Ingra, 1997, 317p.

TORRES, S. B.; MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de maxixe (*Cucumis anguria* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Campinas, v.23, n.2, p.108-112, 2001.

TRAPE, M. Z.; OLIVEIRA, C. Fichas de espécies nativas. **Florestar estatístico**, São Paulo, v.2, n.6, p.71-77, 1995.

VALENTINI, S. R. T.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. Aplicação do teste de vigor em sementes. In: SILVA, A.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (Coord.). **Manual técnico de sementes florestais**. São Paulo: Instituto Florestal, 1995. p.75-84. (Série Registros, 14).

VIEIRA, R. D; CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: Funep, 1994. p.133-135

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Brasília: ABRATES, 1999. p.4.1-4.26.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, London, v.21, p.4407-4414, 1995.

YEE, E.; KIDWELL, K. K.; SILLS, G. R.; LUMPKIN, T. A.. Diversity among selected *Vigna angularis* (azuki) accessions on the basis of RAPD and AFLP markers. **Crop Science**, Madson, v.39, p.268-275. 1999.

ZHIVOTOVSKY, L. A. Estimating population structure in diploids with multilocus dominant DNA markers. **Molecular Ecology**, Canadá, v.8, p.907-913, 1999.

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo