



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

DISSERTAÇÃO

**DIVERSIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE PLANTAS NATIVAS
ACESSADA POR RAPD E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE DIÁSPOROS DE**
Myracrodruon urundeuva Fr. All.

KARIALANE DA SILVA BELARMINO

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA



DIVERSIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE PLANTAS NATIVAS
ACESSADA POR RAPD E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE DIÁSPOROS DE
Myracrodruon urundeuva Fr. All.

KARIALANE DA SILVA BELARMINO

Sob a orientação da Professora

Dra. Riselane de Lucena Alcântara Bruno

e Co-orientação do Professor

Dr. Mailson Monteiro do Rêgo

Dissertação submetida como requisito para
obtenção do grau de **Mestre em Agronomia**,
no Programa de Pós- Graduação em
Agronomia.

Areia, PB

Fevereiro de 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO: DIVERSIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE PLANTAS
NATIVAS ACESSADA POR RAPD E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE
DIÁSPOROS DE *Myracrodruon urundeuva* Fr. All.**

KARIALANE DA SILVA BELARMINO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE em
AGRONOMIA (Agricultura Tropical) pela comissão Examinadora:

Prof^ª. Dra. Riselane de Lucena Alcântara Bruno
Orientadora – CCA/UFPB

Prof. Dr. Mailson Monteiro do Rêgo
Co-orientador – CCA/UFPB

Prof^ª. Dra. Edna Ursulino Alves
Examinadora – CCA/UFPB

Dra. Cibeles dos Santos Ferrari
Examinadora – Bolsista PNPd/UFRN

Data da realização: 20 de fevereiro de 2015.

Presidente da Comissão Examinadora
Dra. Riselane de Lucena Alcântara Bruno
Orientadora

DEDICATÓRIA

***A Deus, pela dádiva da vida e por sua presença constante em meus dias,
iluminando cada passo dado e me guiando sempre pelos caminhos do bem.***

A minha filha e a minha mãe!

A minha filha Karoline, por ser tudo na minha vida, por me fazer sentir o amor mais puro do mundo, por cada gesto inocente que torna os meus dias repletos de muita alegria e amor, por ser o maior presente que Deus me deu.

A minha mãe Janicleide, pelo seu amor incondicional, por ser uma vitoriosa e não medir esforços para me ajudar, por ser essa mulher iluminada por Deus, em quem também me espelho como mãe, não tenho palavras que possam expressar o quanto você significa na minha vida.

Com muito amor Dedico.

AGRADECIMENTOS

*A **Deus**, por ter me concedido a vida e se fazer presente em todas as horas.*

*Agradeço a professora **Riselane de Lucena Alcântara Bruno**, por acreditar em mim, estando ao meu lado na construção de uma carreira profissional, por mais que orientadora se comportar como uma verdadeira amiga, por sua transmissão de conhecimentos tão valiosa, por sua alegria de viver, sua compreensão sempre que necessária e seus conselhos tão importantes para a vida como um todo.*

*Ao professor **Mailson Monteiro do Rêgo**, pela sua disposição para ajudar, por seus ensinamentos transmitidos com satisfação e por exercer a sua profissão com tamanha dedicação, foi um orgulho tê-lo como co-orientador na execução deste trabalho.*

A coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

A CAPES e ao CNPq, pela concessão de bolsa de estudo.

*A professora **Edna Ursulino**, pela generosidade e disponibilidade com que sempre me recebeu em sua sala, estando sempre disposta a ajudar.*

*A professora **Luciana Cordeiro**, pela grande profissional e ser humano que é, por suas palavras de incentivo e compreensão.*

*A professora **Elizanilda Ramalho do Rêgo**, pela receptividade em seu laboratório e alegria sempre demonstrada.*

*A minha filha **Karoline Belarmino Ramos**, por ser o meu bem maior e renovar minhas energias a cada dia com a sua alegria, carinho e amor.*

*Ao meu marido **Robson de Lima Ramos**, pelos seus cuidados, companheirismo, carinho e amor.*

*A minha mãe **Janicleide da Silva Belarmino**, a quem devo muito do que sou e por quem sinto um amor sem limites.*

*Ao meu pai **José Belarmino da Silva Neto**, por me apoiar sempre que preciso, por acreditar em mim, pelo seu cuidado, incentivo e amor sempre constantes.*

*A minha irmã **Kaline Karla da Silva Belarmino**, por ser uma verdadeira amiga, por sua prestatividade e carinho sempre demonstrados para comigo.*

*A minha cunhada **Maria Ramos**, por me ajudar cuidando da minha filha sempre que preciso estar ausente, jamais esquecerei tamanha dedicação, você foi muito importante para a conclusão deste trabalho.*

A **Cibele Ferrari e Mauro Pacheco**, pelo incentivo e ensinamentos por mim nunca esquecidos.

A **Katiane da Rosa**, pelos seus cuidados e auxílio sempre prestados.

A **Givanildo Zildo da Silva**, obrigada por se comportar como um verdadeiro irmão, por sua preocupação para comigo mesmo estando distante, saiba que a sua amizade é um presente de Deus na minha vida, muito obrigada por tudo meu grande amigo.

A **Iane Azevedo**, pelo auxílio dado na parte de campo e por se comportar como uma verdadeira amiga, prestando seu apoio tão importante e estando sempre a disposição para ajudar, você é uma pessoa iluminada.

A **Amanda Kelly**, pela atenção e auxílio disponibilizados sempre que solicitei, sua participação foi de grande importância para execução deste trabalho.

A **Severino do Ramo**, pela colaboração no trabalho e estar sempre disposto a ajudar.

A **Cosmo Rufino**, pelo auxílio prestado sempre que solicitado.

A todos os integrantes do Laboratório de Biotecnologia Vegetal, os quais me receberam de portas abertas e sempre se dispuseram a ajudar.

A **Ângela Maria**, meu muito obrigada pelo auxílio dado, você foi muito importante na concretização deste trabalho.

A **Gláucia**, por sua disponibilidade sempre que precisei e por sua transmissão de conhecimentos fundamentais durante a execução deste trabalho.

A **Priscila Alves**, pela disposição para ajudar sempre que necessário.

A **Fernando dos Santos**, por que há alguns anos me convidou para estagiar no Laboratório de Análise de Sementes e acima de tudo por ser meu amigo e me auxiliar na realização deste trabalho.

A **Maria Lúcia**, por estar comigo sempre que precisei e me incentivar com suas palavras sábias sempre necessárias, você é uma grande amiga.

A **Lucas Cavalcante e Izabela Lopes**, pelo carinho e atenção que sempre tiveram comigo.

A **Ismênia Marayre**, uma amiga de infância que se faz sempre presente me auxiliando e me apoiando sempre que preciso.

As minhas tias **Mironey, Lourdiney e Lucinha**, pelo carinho e cuidados tão necessários.

A **Alex Barbosa**, pela importante colaboração na realização deste trabalho.

*Ao meu primo **Jeferson Trajano** e a **Lucildo Cruz**, pela ajuda na coleta das estacas.*

*Aos funcionários do Laboratório de Análise de Sementes, **Antonio Alves**, **Rui Barbosa** e **Severino Francisco**.*

Obrigada a todos!

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	1
GENERAL ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO GERAL	3
 CAPÍTULO I - DIVERSIDADE GENÉTICA EM UMA POPULAÇÃO DE <i>Poincianella pyramidalis</i> (Tul.) L. P. Queiroz ACESSADA POR MARCADORES MOLECULARES RAPD	7
RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO	10
2. MATERIAL E MÉTODOS	11
2.1. Caracterização da área de coleta.....	11
2.2. Conservação do material vegetal.....	13
2.3. Extração do DNA	13
2.4. Purificação do DNA	14
2.5. Quantificação do DNA	14
2.6. Reação de RAPD	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4. CONCLUSÕES.....	25
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
 CAPÍTULO II - DIVERSIDADE GENÉTICA EM UMA POPULAÇÃO DE <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All. (ANACARDIACEAE) ACESSADA POR MARCADORES MOLECULARES RAPD	29
RESUMO.....	30
ABSTRACT.....	31
1. INTRODUÇÃO	32
2. MATERIAL E MÉTODOS	33
2.1. Caracterização da área de coleta.....	33
2.2. Conservação do material vegetal.....	35
2.3. Extração do DNA	35
2.4. Purificação do DNA	36
2.5. Quantificação do DNA	36
2.6. Reação de RAPD	37
2.7. Diversidade genética.....	37
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4. CONCLUSÕES.....	45
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

CAPÍTULO III - QUALIDADE FISIOLÓGICA DE DIÁSPOROS DE <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All. (ANACARDIACEAE) SUBMETIDOS A DIFERENTES SUBSTRATOS E TEMPERATURAS	50
RESUMO	51
ABSTRACT.....	52
1. INTRODUÇÃO	53
2. MATERIAL E MÉTODOS	54
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
4. CONCLUSÕES.....	63
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I - DIVERSIDADE GENÉTICA EM UMA POPULAÇÃO DE *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz ACESSADA POR MARCADORES MOLECULARES RAPD

Tabela 1. Iniciadores RAPD, sequências de nucleotídeos, número total de bandas amplificadas, locos polimórficos e monomórficos e de polimorfismo em uma população de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz localizada em Soledade, PB.17

Tabela 2. Matriz de distância genética entre 20 indivíduos de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz, oriundos de uma população localizada em Soledade, PB.20

Tabela 3. Coeficiente de correlação cofenética entre a matriz de distâncias e o método de agrupamento hierárquico UPGMA, gerados a partir da análise de diversidade genética entre 20 indivíduos de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz por meio de marcadores RAPD.....24

CAPÍTULO II - DIVERSIDADE GENÉTICA EM UMA POPULAÇÃO DE *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (ANACARDIACEAE) ACESSADA POR MARCADORES MOLECULARES RAPD

Tabela 1. Iniciadores RAPD, sequências de nucleotídeos, número total de bandas amplificadas, locos polimórficos e monomórficos e de polimorfismo em populações de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. localizadas em área de Caatinga.39

Tabela 2. Matriz de distância genética entre 20 indivíduos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., oriundos de três populações localizadas em área de Caatinga.41

Tabela 3. Coeficiente de correlação cofenética entre a matriz de distâncias e o método de agrupamento hierárquico UPGMA, gerados a partir da análise de diversidade genética entre 20 indivíduos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. por meio de marcadores RAPD.....44

CAPÍTULO III - QUALIDADE FISIOLÓGICA DE DIÁSPOROS DE *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (ANACARDIACEAE) SUBMETIDOS A DIFERENTES SUBSTRATOS E TEMPERATURAS

Tabela 1. Porcentagem de germinação de diásporos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. submetidos a diferentes substratos e temperaturas.56

Tabela 2. Índice de velocidade de germinação de diásporos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. submetidos a diferentes substratos e temperaturas.58

Tabela 3. Comprimento da raiz principal (cm) de plântulas de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. oriundas de sementes submetidas a diferentes substratos e temperaturas.59

Tabela 4. Comprimento de parte aérea (cm) de plântulas de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. oriundas de sementes submetidas a diferentes substratos e temperaturas.60

Tabela 5. Massa seca de raízes (mg) de plântulas de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. oriundas de sementes submetidas a diferentes substratos e temperaturas.61

Tabela 6. Massa seca de parte aérea (mg) de plântulas de *Myracrodruon urundeuva* oriundas de sementes submetidas a diferentes substratos e temperaturas.62

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I - DIVERSIDADE GENÉTICA EM UMA POPULAÇÃO DE *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz ACESSADA POR MARCADORES MOLECULARES RAPD

Figura 1. Dispersão gráfica dos 20 indivíduos de <i>Poincianella pyramidalis</i> (Tul.) L. P. Queiroz. [Adaptado de Lima (2014)].....	12
Figura 2. Produtos de amplificação de RAPD gerados com o iniciador OPAT-08 em 20 indivíduos de <i>Poincianella pyramidalis</i> (Tul.) L. P. Queiroz. MM – marcador de peso molecular Ladder 1 Kb.....	18
Figura 3. Dendrograma construído por meio do método UPGMA, com base no coeficiente de similaridade genética de Jaccard numa população natural de 20 indivíduos de <i>Poincianella pyramidalis</i> (Tul.) L. P. Queiroz, a partir de 20 marcadores RAPD.	22
Figura 4. Análise dos componentes principais de uma população natural de 20 indivíduos de <i>Poincianella pyramidalis</i> (Tul.) L. P. Queiroz, avaliados através de marcadores moleculares RAPD.....	25

CAPÍTULO II - DIVERSIDADE GENÉTICA EM UMA POPULAÇÃO DE *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (ANACARDIACEAE) ACESSADA POR MARCADORES MOLECULARES RAPD

Figura 1. Dispersão gráfica dos 20 indivíduos de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All.....	34
Figura 2. Produtos de amplificação de RAPD gerados com o iniciador OPAT-05 em 20 indivíduos de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All. MM – marcador de peso molecular Ladder 1 Kb... ..	40
Figura 3. Dendrograma construído por meio do método UPGMA, com base no coeficiente de similaridade genética de Jaccard numa população natural de 20 indivíduos de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All., a partir de 20 marcadores RAPD.	43
Figura 4. Análise dos componentes principais de uma população natural de 20 indivíduos de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All., avaliados através de marcadores moleculares RAPD.....	45

BELARMINO, Karialane da Silva. Mestre em Agronomia. Universidade Federal da Paraíba, Fevereiro de 2015. **Diversidade genética em populações de plantas nativas acessada por RAPD e qualidade fisiológica de diásporos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All.** 2015. 77f. Orientadora: Riselane de Lucena Alcântara Bruno.

**DIVERSIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE PLANTAS NATIVAS
ACESSADA POR RAPD E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE DIÁSPOROS DE
Myracrodruon urundeuva Fr. All.**

RESUMO GERAL – A Caatinga caracteriza-se por uma diversidade de espécies vegetais com adaptações ecofisiológicas importantes para sobrevivência em regiões semiáridas. Entretanto, varias espécies estão ameaçadas de extinção devido a ações antrópicas que comprometem os ecossistemas presentes nesse bioma. Neste sentido, se fazem necessários estudos acerca dos diversos aspectos que potencializem o desenvolvimento de estratégias de recuperação e conservação de áreas degradadas. O objetivo dos estudos realizados foi avaliar a diversidade genética entre 20 indivíduos de *Poincianella pyramidalis* e *Myracrodruon urundeuva* ocorrentes em populações localizadas na Caatinga paraibana, utilizando-se marcadores RAPD. Objetivou-se também identificar os substratos e temperaturas mais adequados para a avaliação da qualidade fisiológica de diásporos de *M. urundeuva*. Os experimentos de diversidade genética foram realizados através de extração do DNA utilizando-se brotações jovens dos indivíduos e a amplificação com 20 iniciadores para *P. pyramidalis* (OPAT-01 a OPAT-20) e 28 iniciadores para *M. urundeuva* (OPAT-01 a OPAT-20; MEP-01 a MEP-08). As marcas obtidas foram convertidas em uma matriz binária, a partir da qual foi construída a matriz de dissimilaridade genética usando o complemento aritmético do coeficiente de Jaccard e a construção do dendrograma, utilizando-se o método UPGMA. A qualidade fisiológica dos diásporos de *M. urundeuva* foi avaliada utilizando-se diferentes substratos (entre e sobre): areia, vermiculita, basaplant®, papel mata-borrão®, e rolo de papel germitest® combinados com as temperaturas constantes de 20, 25, 30, 35, 40 °C e alternada de 20-30 °C. As variáveis analisadas foram: teor de água, germinação, comprimento de raiz principal e de parte aérea, massa seca de raízes e de parte aérea. Com base nos resultados, os indivíduos 09 e 17 de *P. pyramidalis*, assim como 04 e 09, 13 e 16 de *M. urundeuva*, são importantes fornecedores de material vegetal para o estudo fisiológico de sementes; os indivíduos mais divergentes geneticamente encontrados em ambas as espécies devem ser utilizados em projetos de conservação e/ou restauração. O teste de germinação de *M. urundeuva* deve ser conduzido sobre papel, a 30 °C; em rolo de papel, a qualquer temperatura, exceto 20 °C e 40 °C; em qualquer substrato, exceto entre areia e sobre vermiculita, a 35 °C; plântulas mais vigorosas são obtidas quando os diásporos são semeados sobre areia, a 25 °C.

Palavras-chave: Análise molecular, Aroeira, Catingueira, Germinação

BELARMINO, Karialane da Silva. Master in Agronomy. Universidade Federal da Paraíba, February, 2015. **Genetic diversity in native plant populations accessed by RAPD and physiological quality of *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. diasporas.** 2015. 77f. Supervisor: Riselane de Lucena Alcântara Bruno.

**GENETIC DIVERSITY IN NATIVE PLANT POPULATIONS ACCESSED BY
RAPD AND PHYSIOLOGICAL QUALITY OF *Myracrodruon urundeuva* Fr. All.
DIASPORAS**

GENERAL ABSTRACT – The Caatinga is characterized by a diversity of plant species with important ecophysiological adaptations for survival in semiarid regions. However, several species are threatened with extinction due to human actions that compromise the ecosystems present in this biome. In this sense, are necessary studies on the various aspects that enhance the development of recovery strategies and conservation of degraded areas. The aim of the studies was to evaluate the genetic diversity among 20 individuals of *Poincianella pyramidalis* and *Myracrodruon urundeuva* occurring in populations located in Caatinga of Paraíba, using molecular markers. The objective also identify the most appropriate substrates and temperatures to evaluate the physiological quality of *M. urundeuva* diasporas. The genetic diversity of experiments were performed through DNA extraction using young shoots of individuals and amplification with 20 primers for *P. pyramidalis* (OPAT-01 to OPAT-20) and 28 primers for *M. urundeuva* (OPAT-01 to OPAT-20; MEP-01 to-08 MEP). The obtained labels were converted into a binary matrix, from which it is constructed the genetic dissimilarity matrix using complement arithmetic of Jaccard's coefficient and construction of dendrogram, using the UPGMA method. The physiological quality of *M. urundeuva* diasporas was evaluated using different substrates (between and over): sand, vermiculite, basaplant[®], mata-borrão[®] paper and scroll germitest[®] paper combined with constant temperatures of 20, 25, 30, 35, 40 °C and alternate 20-30 °C. The variables analyzed were: water content, germination, main root and shoot length, dry weight of roots and shoots. Based on the results, *P. pyramidalis* subjects 09 and 17, as well as 04 and 09, 13 and 16 of *M. urundeuva* are important for suppliers of plant material to the physiological seed assessment; the most divergent individuals genetically found in both species should be used in conservation projects and/or restoration. *M. urundeuva* germination test should be conducted on paper at 30 °C; in a roll of paper, at any temperature other than 20 °C and 40 °C; on any substrate except between sand and vermiculite at 35 °C; more vigorous seedlings are obtained when the diasporas are grown on sand at 25 °C.

Keywords: Molecular analysis, Aroeira, Catingueira, Germination

1. INTRODUÇÃO GERAL

A Caatinga compreende um tipo de vegetação estacional decidual que cobre a maior parte da região semiárida do Nordeste, distribuindo-se por uma área equivalente a cerca de 800 mil km² (PRADO, 2003). Esse bioma ainda caracteriza-se por possuir uma vegetação diversificada quanto a fisionomias e conjuntos florísticos, sendo a sua distribuição determinada, em grande parte, pelo clima, relevo e embasamento geológico que, em suas múltiplas inter-relações, resultam em ambientes ecológicos bastante distintos (RODAL et al., 2008).

Em biomas tropicais como a Caatinga, a capacidade das populações naturais adaptarem-se às mudanças ambientais pode ser comprometida pela fragmentação ocorrente e consequente diminuição da sua diversidade, principalmente devido às perturbações antrópicas (PINTO et al., 2004; MOURA, 2005).

A catingueira [*Poincianela pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz] é uma espécie florestal, endêmica da Caatinga (MAIA, 2004); podendo ser encontrada em diversas associações vegetais, com ocorrência nos estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e norte de Minas Gerais, locais estes onde é bastante utilizada pelas comunidades para a obtenção de lenha e carvão (SILVA et al., 2009).

Outra espécie existente neste bioma, porém ameaçada de extinção, é *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (BRASIL, 2008); uma planta dióica, polinizada por insetos, popularmente conhecida como aroeira (LORENZI, 2008). Sendo que a exploração inadequada de suas populações naturais vem comprometendo sua capacidade de sobrevivência em habitat natural (FREITAS et al., 2006).

A pressão sobre os recursos genéticos na Caatinga é bastante acentuada, seja devido às condições sócio-econômicas dos habitantes, seja devido ao estabelecimento de atividades produtivas. O primeiro dano ocorre devido à perda gradativa da variabilidade genética para todas as espécies do bioma, o que poderá resultar num segundo momento no desaparecimento de uma dada espécie sob intensa utilização. Escassos têm sido os trabalhos referentes à coleta, utilização, caracterização, estudos filogenéticos e genéticos e pré-melhoramento das espécies endêmicas ou de ocorrência espontânea na região (EMBRAPA, 2000).

A deficiência de informações sobre ecologia e genética em populações naturais, em função da alta diversidade e complexidade de espécies, dificulta a amostragem e definição

de metodologias apropriadas para o seu estudo. Esse conhecimento é essencial para o entendimento da estrutura genética dessas populações e, portanto, para o delineamento de estratégias de conservação, melhoramento, manejo sustentável, recuperação de áreas degradadas e coleta de sementes para plantios com espécies nativas (KAGEYAMA et al., 2003).

O estudo da diversidade genética populacional evita a seleção de árvores matrizes considerando-se apenas a qualidade fisiológica, uma vez que isso compromete a utilização das sementes em uso posterior, pelo risco de que sejam oriundas de indivíduos aparentados (SCHMIDT, 2000). Esse conhecimento da variabilidade e da base genética das sementes a serem utilizadas é imprescindível para a garantia da sustentabilidade dos plantios, tenham estes finalidade produtiva ou conservacionista (PAULA, 2007).

Ainda a respeito da diversidade genética, o advento da PCR (Reação da Polimerase em Cadeia) permitiu o desenvolvimento de diversas classes de marcadores moleculares amplamente utilizados na avaliação de polimorfismos dentro e entre espécies. A técnica de RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) tem se mostrado atrativa no que diz respeito à simplicidade de execução e ao custo relativamente baixo, além de não requerer conhecimento prévio do genoma em estudo a fim de se desenhar iniciadores específicos.

Essa técnica utiliza iniciadores correspondentes a sequências curtas e arbitrárias de nucleotídeos. O produto da reação de PCR é derivado de uma região do genoma que contém dois segmentos curtos homólogos aos iniciadores, em fitas opostas de DNA e suficientemente próximos para que a amplificação ocorra. Os polimorfismos resultam de diferenças na sequência do local de ancoramento dos iniciadores e a distância entre eles (WILLIAMS et al., 1990), gerando um perfil de fragmentos de DNA que podem ser observados após eletroforese em gel comumente de agarose. Esses fragmentos são convertidos em dados binários (presença ou ausência de bandas), os quais são utilizados para avaliar as relações genéticas através de programas estatísticos.

Além da realização de pesquisas acerca de diversidade genética em populações naturais, outro aspecto importante a ser considerado é a qualidade fisiológica das sementes originadas por estas plantas, a qual geralmente é avaliada pelos testes de germinação e vigor, caracterizando atributos físicos e fisiológicos, uma vez que, nas espécies nativas, ocorre elevada variação na germinação entre diferentes populações (SILVA e CARVALHO, 2008).

Diante disso, o objetivo deste estudo foi analisar a diversidade genética de populações de plantas nativas através de marcadores RAPD assim como avaliar a qualidade fisiológica de diásporos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All..

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). Instrução Normativa nº 6, de 23 de setembro de 2008. **Lista oficial das espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção**. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF, v. 145, n. 185, 24 set. 2008. Seção 1, p. 75-83.

EMBRAPA SEMI-ÁRIDO. **II Plano Diretor Embrapa Semi-Árido 2000-2003**. Petrolina, 2000. 55p.

FREITAS, M. L. M.; AUKAR, A. P. A.; SEBBENN, A. M.; MORAES, M. L. T.; LEMOS, E. G. M. Variação genética em progênies de *Myracrodruon urundeuva* F. F. & M. F. Allemão em três sistemas de cultivo. **Revista Árvore**, v. 30, n. 3, p. 319-329, 2006.

KAGEYAMA, P. Y.; SEBBEN, A. M., RIBAS, L. A.; GANDARA, F. B.; CASTELLEN, M.; PERECIM, M. B.; VENCovsky, R. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia Forestalis**, n. 64, p.93-107, 2003.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: Manual de Identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 5ª ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2008. 352 p.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. 1 ed. São Paulo-SP: Ed. D & Z, 2004. 135-139 p.

MOURA, M. C. O. **Distribuição da variabilidade genética em populações naturais de *Eremanthus erythropappus* (DC) MacLeish por isoensimas e RAPD** – Lavras: UFLA, 2005. 165 p.

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

PINTO, S. I. C.; SOUZA, A. M.; CARVALHO, D. Variabilidade genética por isoenzimas em populações de *Copaifera langsdorffii* Desf. em dois fragmentos de mata ciliar. **Scientia Forestalis**, v. 1, n. 65, p. 40-48, 2004.

PRADO, D. E. As caatingas da América do Sul. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. (Org.) **Ecologia e conservação da caatinga**. Recife: Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, 2003. p. 1-74.

RODAL, M. J. N.; COSTA, K. C. C. C.; SILVA, A. C. B. L. Estrutura da vegetação caducifólia espinhosa (Caatinga) de uma área do sertão central de Pernambuco. **Hoehnea**, v. 35, n. 2, p. 209-217, 2008.

SCHMIDT, L. **Guide to handling of tropical and subtropical forest seed**. Humlebaek: Danida Forest Seed Centre, 2000. 511 p.

SILVA, B. M. S.; CARVALHO, N. M. Efeitos do estresse hídrico sobre o desempenho germinativo da semente de faveira (*Clitoria fairchildiana* R. A. Howard. - Fabaceae) de diferentes tamanhos. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 1, p. 55-65, 2008.

SILVA, L. B.; SANTOS, F. A. R.; GASSON, P.; CUTLER, D. Anatomia e densidade básica da madeira de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Fabaceae), espécie endêmica da caatinga do Nordeste do Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, v.23, n.2, p.436-445, 2009.

WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, n. 22, p. 6531–6535, 1990.

CAPÍTULO I

**DIVERSIDADE GENÉTICA EM UMA POPULAÇÃO DE *Poincianella pyramidalis*
(Tul.) L. P. Queiroz ACESSADA POR MARCADORES MOLECULARES RAPD**

DIVERSIDADE GENÉTICA EM UMA POPULAÇÃO DE *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz ACESSADA POR MARCADORES MOLECULARES RAPD

RESUMO - *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz é uma espécie endêmica da Caatinga que vem sendo explorada para diversificados fins, havendo a necessidade de informações acerca de populações naturais ainda existentes. O objetivo do estudo foi avaliar a diversidade genética entre 20 indivíduos de *P. pyramidalis* ocorrentes em uma população localizada na Caatinga paraibana, com vistas à coleta de sementes, utilizando-se marcadores RAPD. Para a extração do DNA foram utilizadas brotações jovens dos indivíduos e a amplificação foi feita utilizando-se 20 iniciadores. As marcas obtidas foram convertidas em uma matriz binária, a partir da qual foi construída a matriz de dissimilaridade genética usando o complemento aritmético do coeficiente de Jaccard e a construção do dendrograma, utilizando-se o método UPGMA. Nenhum fragmento amplificado foi monomórfico, resultando, portanto, em 100% de polimorfismo na população analisada. O valor médio de diversidade genética entre as matrizes foi de 63,28%, variando de 30,9 a 97,7%. Os indivíduos 09 e 17 apresentaram relevante proximidade genética, não sendo indicado o plantio de suas mudas em locais próximos. A população avaliada neste estudo apresentou alta diversidade genética, originando doze grupos a partir da análise de agrupamento hierárquico UPGMA. Com base nos resultados, os indivíduos 09 e 17 podem fornecer material vegetal para avaliação do desempenho fisiológico de sementes de *P. pyramidalis*, assim como, o conjunto de indivíduos da população apresenta diversidade genética elevada, a qual os caracteriza como matrizes adequadas a projetos de restauração e/ou conservação da referida espécie.

Palavras-chave: Análise molecular, Catingueira, Espécie florestal

**GENETIC DIVERSITY IN A *Poincianella pyramidalis* (Tul) L. P. Queiroz
POPULATION ACESSED BY RAPD MOLECULAR MARKERS**

ABSTRACT – *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz is an endemic species of the Caatinga that has been explored for diversified purposes, with the need for information about remaining natural populations. The objective of the study was to evaluate the genetic diversity among 20 individuals of *P. pyramidalis* occurring in a population located in the Caatinga of Paraiba, aiming to collect seeds, using RAPD molecular markers. For DNA extraction were used young shoots of individuals and amplification was performed using primers 20. The markers were transformed into a binary matrix, from which was constructed the genetic dissimilarity matrix using Jaccard arithmetic complement and construction of dendrogram using the UPGMA method. No amplified fragment was monomorphic, resulting therefore in 100% polymorphism in the population. The mean genetic diversity among individuals was 63.28%, ranging from 30.9 to 97.7%. Individuals 09 and 17 showed significant genetic similarity, so that planting your seedlings at nearby locations is not indicated. The population evaluated in this study showed high genetic diversity, originating twelve groups from the UPGMA cluster analysis. Based on the results, the individuals 09 and 17 can provide plant material to assess the *P. pyramidalis* seed physiologic performance, as well as, the group of individuals shows high genetic diversity, that can characterize as adequate matrices to restauration and/or conservation of the respective specie.

Keywords: Molecular analysis, Catingueira, Forestry species

1. INTRODUÇÃO

O bioma Caatinga é o maior e mais importante ecossistema existente na região Nordeste brasileira, ocupando praticamente 60% de sua área, estendendo-se pelo domínio de climas semiáridos. Ocupa parte dos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Piauí, Bahia e uma pequena porção ao Norte de Minas Gerais (ANDRADE et al., 2005). Pesquisas científicas mostram que esse ecossistema possui significativo número de espécies endêmicas, ou seja, que ocorrem apenas nessa região, e que devem ser consideradas como patrimônio biológico de valor inestimável (SAMPAIO et al., 2002).

Em meio às variadas espécies da Caatinga utilizadas para exploração florestal, destaca-se a catingueira [*Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz], uma xerófila, caducifólia, pertencente à família Fabaceae, sendo muito utilizada para o fornecimento de madeira para lenha e carvão, forragem para o gado, na medicina popular e para restauração florestal (MAIA, 2004).

Diante de tantas utilidades e importância ecológica, *P. pyramidalis* foi incluída pelo Ministério do Meio Ambiente na lista unificada de espécies prioritárias para o bioma Caatinga (PAREYN, 2010). Contudo, ainda persiste a carência de informações acerca de diversos aspectos a esta relacionada, dentre eles, estudos envolvendo a diversidade genética de populações naturais da espécie, os quais, por conseguinte, poderiam fornecer subsídios para programas de conservação, melhoramento e coleta de sementes.

Muitas pesquisas a respeito da diversidade genética de recursos vegetais têm sido realizadas atualmente e se devem, principalmente, às tecnologias modernas da genética e biologia molecular, que por meio da técnica do DNA recombinante, da reação em cadeia da polimerase e do sequenciamento automático do DNA tornaram possível o desenvolvimento de marcadores moleculares capazes de detectar polimorfismo genético diretamente no DNA, sendo utilizados para identificação, caracterização e avaliação dos recursos genéticos vegetais (FALEIRO, 2007).

Atualmente, existe um número considerável de marcadores moleculares, sendo a escolha de um ou outro dependente de alguns fatores, a exemplo do nível tecnológico e dos recursos financeiros disponíveis. Nos casos em que não se tem acesso a tecnologias como a de sequenciamento prévio do genoma, por exemplo, marcadores moleculares de sequência arbitrária podem ser rápidos e facilmente utilizados para iniciar a avaliação da diversidade genética de recursos vegetais (VELASCO-RAMÍREZ et al., 2014).

A técnica de RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) utiliza iniciadores arbitrários curtos (geralmente decâmeros), os quais resultam na amplificação de vários produtos de DNA na mesma reação de PCR; sendo estes derivados de uma região do genoma que contém dois segmentos homólogos aos iniciadores, em fitas opostas de DNA e suficientemente próximos para que a amplificação ocorra (WILLIAMS et al., 1990).

Trabalhos recentes têm demonstrado o grande potencial dos marcadores RAPD para estimar a diversidade genética entre genótipos de espécies do gênero *Poincianella* (MENDES et al., 2014) e de populações naturais de outras espécies nativas da Caatinga, a exemplo de *Amburana cearensis* (Fr. Allem.) A.C. Smith, *Myracrodruon urundeuva* M. Allem., *Schinopsis brasiliensis* Engl. (SANTOS et al., 2007) e *Ziziphus joazeiro* Mart. (GOIS et al., 2014).

Sendo assim, objetivou-se com este estudo avaliar a diversidade genética entre árvores matrizes de *P. pyramidalis* provenientes de uma população natural da Caatinga, com vistas à coleta de sementes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Caracterização da área de coleta

Coletou-se estacas de 20 indivíduos de *P. pyramidalis*, os quais foram selecionados e georreferenciados a partir do método de trilhas. Os indivíduos estão localizados na Fazenda Açude, município de Soledade-PB, na microrregião do Curimataú Ocidental, no Agreste Paraibano (-7° 7' 22" de Latitude e -36° 19' 33" de Longitude), localizada a 10 km da BR-230 (Figura 1). A área tem relevo predominantemente suave ondulado, com altitude em torno de 535 m em relação ao nível do mar.

O clima da região é quente e seco, de acordo com Köppen (1948), do tipo semiárido, subtipo BS'h, com uma precipitação pluviométrica média anual de 500 mm, com temperaturas máxima de 31 °C e mínima de 16,7 °C, apresentando pequenas variações e umidade relativa do ar em torno de 65%.

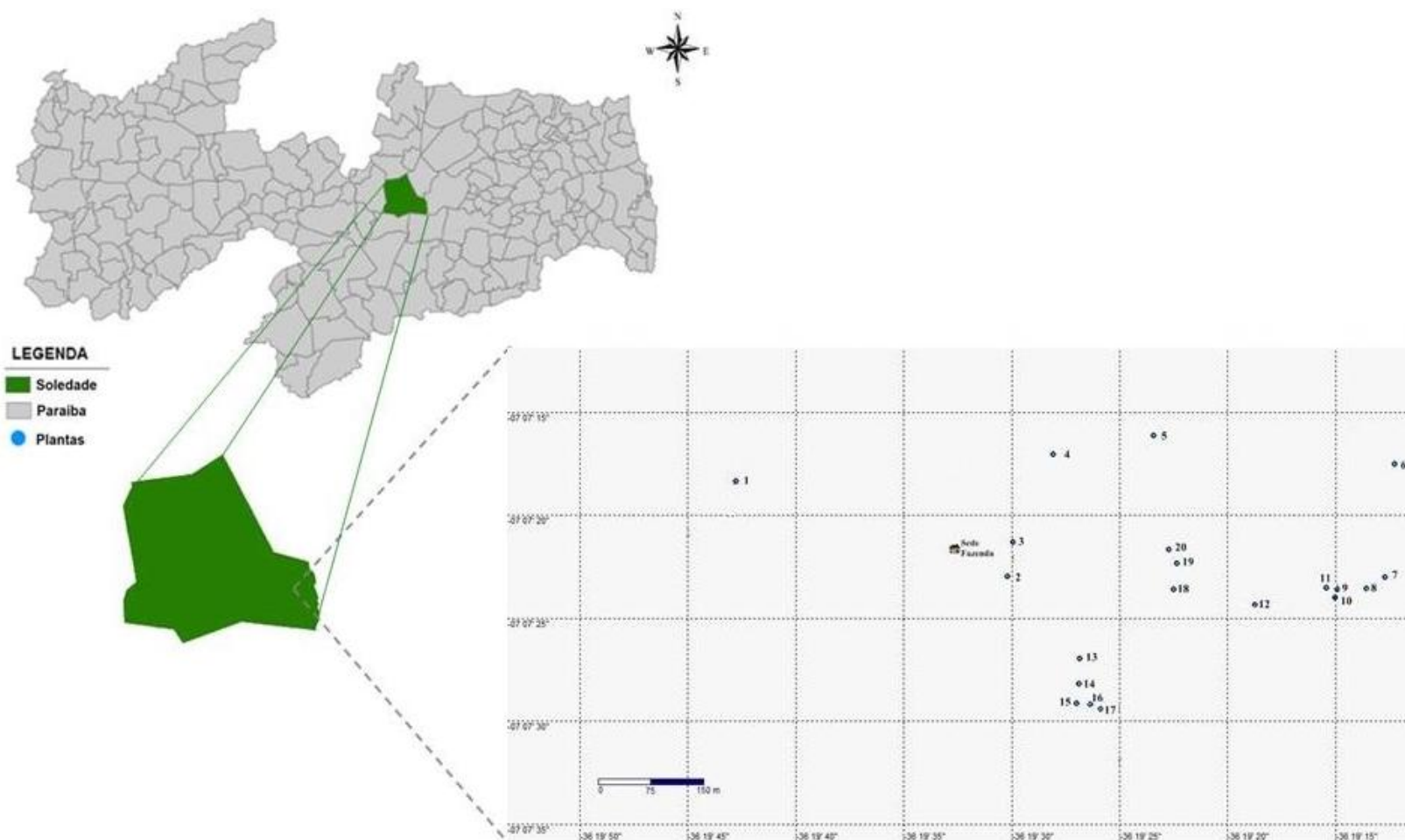


Figura 1. Dispersão gráfica dos 20 indivíduos de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz. [Adaptado de Lima (2014)]

2.2. Conservação do material vegetal

Após a coleta, as estacas foram devidamente acondicionadas em sacos de polietileno e mantidas em caixas de poliestireno expandido a fim de se evitar a perda de umidade. Em seguida, o material foi encaminhado ao Laboratório de Análise de Sementes (LAS) do Centro de Ciências Agrárias da UFPB; posteriormente, as estacas foram postas em recipientes corretamente identificados e contendo água a fim de se induzir a formação de brotações. O material vegetal (brotações) foi coletado e mantido em freezer para melhor conservação, sendo posteriormente encaminhado ao Laboratório de Biotecnologia Vegetal (CCA/UFPB) para a extração do DNA.

2.3. Extração do DNA

A extração do DNA foi baseada no método descrito por Doyle e Doyle (1990). Utilizou-se 180-200 mg de folhas maceradas com nitrogênio líquido até a obtenção de um pó fino; transferiu-se esse material para microtubos de 1,5 mL onde foi adicionado 700 µL de tampão de extração (CTAB 2%; β-mercaptoetanol), sendo os microtubos agitados lentamente por 1 minuto até que a solução se tornasse viscosa. As amostras foram submetidas à banho-maria (60 °C por 30 minutos) para solubilização e homogeneização da suspensão; em seguida, foi acrescentado 600 µL de CIA (Clorofórmio:Álcool isoamílico) (24:1), agitou-se lentamente durante 1 minuto e centrifugou-se à 13.400 rpm por 10 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante (500 µL) foi transferido para um novo microtubo; foi adicionado 50 µL do volume do tampão de lavagem, sendo os microtubos homogeneizados e agitados por inversão durante 5 minutos. Acrescentou-se 500 µL de CIA, agitou-se e centrifugou-se à 13.400 rpm por mais 5 minutos; transferiu-se 365 µL da fase superior para um novo microtubo e foi adicionado 1.130 µL de tampão de precipitação. Os microtubos permaneceram incubados à temperatura ambiente por 30 minutos e em seguida foram centrifugados à 13.400 rpm por 10 minutos. Descartou-se o sobrenadante e ressuspendeu-se o pellet em 400 µL de TE (Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8,0), adicionou-se 200 µL de acetato de amônio e 900 µL de etanol 95% frio. Misturou-se lentamente até precipitar o DNA e incubou-se os microtubos por 1 hora a -20 °C. Após a incubação, estes foram centrifugados à 13.400 rpm por 10 minutos, o sobrenadante foi descartado e adicionou-se 700 µL de etanol 95% frio, sendo estes submetidos a centrifugação à 13.400 rpm por mais 1 minuto. O sobrenadante foi descartado

cuidadosamente evitando o descarte do pellet de ácidos nucléicos formado no fundo do tubo. Os microtubos foram então invertidos e deixados à temperatura ambiente para a total evaporação do etanol; o material foi ressuspendido em 50 µL de TE e congelados a -20 °C.

2.4. Purificação do DNA

As amostras de DNA genômico dos indivíduos de *P. pyramidalis* foram incubadas em banho-maria à 37 °C, com o DNA, na proporção de 1:1/2 RNase (40 ng/mL) (v:v), durante 12 minutos. Adicionou-se 1:10 de NaCl 5M seguido de 2/3 do volume de isopropanol gelado, sendo as amostras mantidas à -20 °C por 2 horas. Passado o período de incubação, as amostras foram centrifugadas, por 10 minutos à 14000 rpm. O sobrenadante foi removido e os microtubos lavados duas vezes com etanol 70% e uma vez com etanol 95%, sendo centrifugados à 14000 rpm durante 2 minutos a cada lavagem. Em seguida, o sobrenadante foi descartado cuidadosamente e os microtubos mantidos à temperatura ambiente para total evaporação do etanol; o precipitado foi ressuspendido em 40 µL de tampão TE.

2.5. Quantificação do DNA

Para estimativa da quantidade e integridade do DNA, o material foi submetido ao processo de eletroforese em gel de agarose 0,8%. Alíquotas de cada amostra de DNA foram aplicadas nos poços do gel e a concentração das amostras foi estimada por comparação visual da intensidade de fluorescência das bandas do DNA, com a do padrão conhecido. A corrida foi realizada em tampão TAE 1X (Tris-acetato 0,04 M e EDTA 1 mM), a 80 volts e o gel, corado com brometo de etídio, foi fotografado sob luz UV, em um fotodocumentador tipo Gel logic 112.

2.6. Reação de RAPD

As reações de amplificação do DNA foram feitas utilizando-se um volume final de 25µl, sendo 23 µl de Master Mix (Tampão 1x + MgCl₂ 3 mM + dNTP 200 mM + primer 1 mM + Taq DNA polimerase 1 U) e 2 µl de DNA genômico (50 ng) da amostra.

Para a obtenção das marcas de RAPD foram utilizados 20 iniciadores (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA) decâmeros: OPAT-01, OPAT-02, OPAT-03, OPAT-04, OPAT-05, OPAT-06, OPAT-07, OPAT-08, OPAT-09, OPAT-10, OPAT-11, OPAT-12, OPAT-13, OPAT-14, OPAT-15, OPAT-16, OPAT-17, OPAT-18, OPAT-19, OPAT-20. Esses

iniciadores foram eficientes na determinação da diversidade genética para duas espécies do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae) (TOREZAN et al., 2005); (BEZERRA, 2014).

As reações de amplificação foram efetuadas em um termociclador com o seguinte programa: desnaturação inicial de 94 °C por 3 minutos; 40 ciclos, sendo cada ciclo constituído da seguinte sequência: 15 segundos a 94 °C, 30 segundos a 34 °C e 60 segundos a 72 °C; após os 40 ciclos, foi realizada a extensão final a 72 °C por sete minutos. Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese, em cuba horizontal, contendo tampão TBE 0,5 X, por um período de 1 hora, em gel de agarose 1,5% a 80 volts. Ao término da corrida, os géis foram fotografados sob luz UV, em um fotodocumentador tipo Gel logic 112.

2.7. Diversidade genética

Através da leitura das bandas no gel, foi construída uma matriz binária, em que (0) indicava ausência e (1), a presença de bandas; a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os indivíduos, gerando uma matriz de dissimilaridade, por meio do complemento aritmético (1-C) do coeficiente de similaridade de Jaccard (1908). A matriz de distâncias genéticas foi utilizada para realizar a análise de agrupamento por meio do dendrograma, utilizando-se o método de agrupamento hierárquico UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean*). Para o corte no dendrograma, adotou-se o critério proposto por Mojema (1977), o qual é baseado no tamanho relativo dos níveis de fusões (distâncias) no dendrograma. Também foi calculado o coeficiente de correlação cofenética e realizada a análise dos componentes principais, a qual baseou-se na matriz de distâncias genéticas, de modo a dispor os indivíduos em um gráfico tridimensional de dispersão. Todas as análises foram realizadas utilizando o Programa Genes (CRUZ, 2006).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de RAPD, dos 20 iniciadores utilizados, 16 geraram um total de 846 bandas amplificadas e 94 locos polimórficos, sendo que o número de fragmentos por iniciador variou de 2 (OPAT-04) até 9 (OPAT-02, OPAT-11), com uma média de 6,7 locos por iniciador, dos quais nenhum foi monomórfico, resultando, portanto, em 100% de polimorfismo na população estudada (Tabela 1), caracterizando-a como sendo de alta diversidade genética. Ao analisar a variabilidade genética entre plantas de *Larix gmelinii*, Zhang et al. (2013) verificaram resultados similares entre os marcadores RAPD e ISSR, sendo a porcentagem de locos polimórficos igual a 97,35% quando utilizaram 23 marcadores RAPD.

Com exceção dos iniciadores OPAT-04, OPAT-13 e OPAT-18, os quais geraram quantidades inferiores de fragmentos e dos iniciadores OPAT-06, OPAT-10, OPAT-15, OPAT-17, OPAT-19 E OPAT-20, que não originaram nenhuma amplificação, os demais iniciadores foram eficientes à medida que produziram bandas nítidas e intensas (Figura 2). Estudando a diversidade genética de uma população natural de *Aspidosperma pyrifolium* Mart. e utilizando os mesmos iniciadores, Bezerra (2014) encontrou resultados semelhantes, onde o OPAT-06, OPAT-10, OPAT-15 e OPAT-17 também não amplificaram o DNA.

Tabela 1. Iniciadores RAPD, sequências de nucleotídeos, número total de bandas amplificadas, locos polimórficos e monomórficos e de polimorfismo em uma população de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz localizada em Soledade, PB.

Iniciador	Sequência 5'→ 3'	Nº total de bandas amplificadas	Nº de locos polimórficos	Nº de locos monomórficos	Polimorfismo (%)
OPAT - 01	CAGTGGTTCC	66	8	0	100
OPAT - 02	CAGGTCTAGG	94	9	0	100
OPAT - 03	GACTGGGAGG	78	7	0	100
OPAT - 04	TTGCCTCGCC	28	2	0	100
OPAT - 05	ACACCTGCCA	83	8	0	100
OPAT - 06	CCGTCCCTGA	0	0	0	0
OPAT - 07	ACTGCGACCA	92	8	0	100
OPAT - 08	TCCTCGTGGG	87	8	0	100
OPAT - 09	CCGTTAGCGT	60	7	0	100
OPAT - 10	ACCTCCGGTC	0	0	0	0
OPAT - 11	CCAGATCTCC	69	9	0	100
OPAT - 12	CTGCCTAGCC	60	6	0	100
OPAT - 13	CTGGTGGAAG	44	4	0	100
OPAT - 14	GTGCCGCACT	42	7	0	100
OPAT - 15	TGACGCACGG	0	0	0	0
OPAT - 16	CTCTCCGTAG	28	7	0	100
OPAT - 17	AGCGACTGCT	0	0	0	0
OPAT - 18	CCAGCTGTGA	15	4	0	100
OPAT - 19	ACCAAGGCAC	0	0	0	0
OPAT - 20	ACATCAGCCC	0	0	0	0
TOTAL		846	94	0	

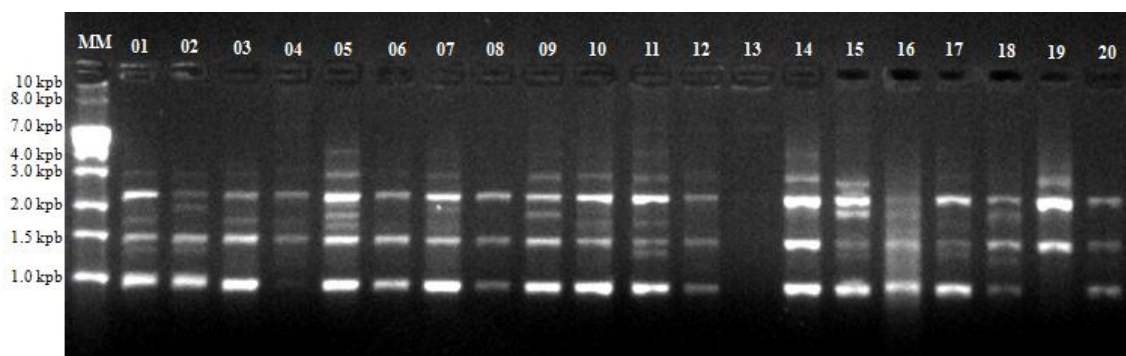


Figura 2. Produtos de amplificação de RAPD gerados com o iniciador OPAT-08 em 20 indivíduos de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz. MM – marcador de peso molecular Ladder 1 Kb.

Na Tabela 2, encontram-se os valores da matriz de dissimilaridade com base no complemento do índice de similaridade de Jaccard (1908), utilizados para elaborar o dendrograma por meio da técnica de agrupamento UPGMA. As distâncias genéticas entre os 20 indivíduos de *P. pyramidalis* variaram entre 0,309 (indivíduos 09 e 17) e 0,977 (indivíduos 04 e 16); sendo o valor médio de dissimilaridade genética observado nesta população equivalente a 0,632 (63,28%). Esse alto índice é de grande relevância para a prática de seleção e realização de cruzamentos, sendo que a escolha dos genitores deve tomar como base os indivíduos mais divergentes geneticamente. Além disso, todas as plantas com maior distinção genética na população como um todo devem ser selecionadas para coleta de sementes, pois são importantes para a formação de lotes com maior diversidade genética.

Ao avaliar a qualidade fisiológica das sementes oriundas das mesmas matrizes analisadas neste estudo, Lima (2014) observou que maiores porcentagens de germinação são conseguidas com sementes originadas das plantas 02, 03, 08 e 20, assim como maior vigor é obtido com sementes oriundas das plantas 03 e 08. Estas matrizes, as quais originaram sementes com alta qualidade fisiológica, também apresentaram alta divergência genética tanto a partir da análise da matriz de dissimilaridade genética (Tabela 2) quanto do dendrograma gerado por meio do método de agrupamento hierárquico UPGMA (Figura 3).

Ao analisar a diversidade genética entre 18 indivíduos de *Genipa americana* L., Rabbani et al. (2012) identificaram uma distância genética média de 60,4%. Uma espécie com baixa diversidade genética pode não ter a capacidade de responder a mudanças ambientais, competir com outras plantas ou mesmo ter mecanismos de defesa eficazes contra pragas e predadores. É essencial para objetivo da conservação e

melhoramento de plantas que a variabilidade genética esteja presente entre indivíduos da mesma espécie, entre grupos de cruzamentos interespecíficos, ou mesmo entre diferentes espécies do mesmo gênero; nesta base, o conhecimento sobre a diversidade genética é crucial para adoção de estratégias de manejo e conservação de plantas bem sucedido, em particular no caso de uma espécie nativa, como *P. pyramidalis* (MENDES et al., 2014).

Tabela 2. Matriz de distância genética entre 20 indivíduos de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz, oriundos de uma população localizada em Soledade, PB.

INDIVÍDUOS	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
01	0	0,508	0,391	0,672	0,338	0,677	0,463	0,767	0,453	0,424	0,456	0,623	0,841	0,421	0,488	0,887	0,452	0,682	0,500	0,7422
02		0	0,462	0,653	0,582	0,659	0,545	0,725	0,569	0,579	0,586	0,615	0,864	0,594	0,600	0,878	0,615	0,667	0,556	0,721
03			0	0,700	0,426	0,660	0,467	0,740	0,456	0,397	0,479	0,667	0,808	0,486	0,571	0,885	0,500	0,690	0,507	0,759
04				0	0,612	0,610	0,678	0,639	0,578	0,638	0,614	0,627	0,703	0,623	0,629	0,977	0,625	0,591	0,517	0,641
05					0	0,656	0,471	0,781	0,400	0,500	0,385	0,680	0,815	0,368	0,476	0,894	0,419	0,642	0,405	0,738
06						0	0,709	0,552	0,708	0,667	0,714	0,714	0,677	0,687	0,764	0,912	0,694	0,659	0,677	0,647
07							0	0,788	0,500	0,424	0,539	0,667	0,852	0,420	0,472	0,885	0,543	0,754	0,529	0,736
08								0	0,774	0,769	0,829	0,778	0,680	0,788	0,809	0,926	0,783	0,618	0,787	0,733
09									0	0,394	0,410	0,634	0,846	0,373	0,423	0,908	0,309	0,672	0,343	0,730
10										0	0,466	0,629	0,811	0,406	0,458	0,865	0,415	0,758	0,471	0,692
11											0	0,608	0,843	0,380	0,427	0,900	0,387	0,623	0,329	0,754
12												0	0,800	0,597	0,603	0,837	0,638	0,640	0,582	0,628
13													0	0,821	0,769	0,963	0,759	0,722	0,803	0,679
14														0	0,372	0,846	0,392	0,671	0,378	0,708
15															0	0,848	0,356	0,597	0,365	0,712
16																0	0,847	0,923	0,869	0,935
17																	0	0,656	0,386	0,695
18																		0	0,641	0,658
19																			0	0,721
20																				0

A análise de agrupamento, pelo método UPGMA, realizada com base nas distâncias genéticas, permitiu alocar os 20 indivíduos de *P. pyramidalis* em doze grupos de similaridade genética, sendo o ponto de corte (41,98%) realizado segundo os critérios de Mojema (1977); a consistência das bifurcações geradas pelo dendrograma variou de 11 a 100% entre os indivíduos avaliados (Figura 3).

O maior grupo foi formado pelos indivíduos 01, 05, 09, 11, 14, 15, 17 e 19; podendo-se observar dentro deste uma maior similaridade entre os indivíduos 09 e 17. O segundo grupo está representado pelos indivíduos 03 e 10; os demais grupos (dez) foram formados de maneira individual, contendo apenas um indivíduo cada (02, 04, 06, 07, 08, 12, 13, 16, 18 e 20). Ainda é importante ressaltar que 40% dos indivíduos foram agrupados no primeiro grupo, observando-se que, apesar de similares, estes ainda possuem certa divergência genética. Esta similaridade pode ser reflexo do processo de fragmentação pelo qual o ecossistema Caatinga vem sofrendo, ocasionando assim cruzamentos entre indivíduos aparentados.

Entre os diversos fatores que contribuem para a geração de sementes e mudas inviáveis está a endogamia, especialmente nas espécies florestais, uma vez que a maioria delas é de reprodução cruzada (SHIMIZU, 2007). É de relevante importância o conhecimento da variabilidade genética existente em populações que sofreram ações antrópicas, visando à contribuição para o desenvolvimento de um manejo adequado nessas populações e a recuperação de ambientes degradados (RABBANI et al., 2012).

Estudando a diversidade genética entre duas espécies do gênero *Poincianella* [*P. pyramidalis* e *P. bracteosa* (Tul.) L. P. Queiroz] através de 11 marcadores RAPD, Mendes et al. (2014) observaram uma similaridade média de 59% entre os dez acessos analisados, tendo o dendrograma (método UPGMA) subdividido os oito acessos de *P. pyramidalis* analisados em três grupos de similaridade genética. Ao verificarem a diversidade genética de três populações de *Z. joazeiro*, Gois et al. (2014) detectaram similaridades genéticas médias de 54%, 55% e 44%, respectivamente; quando gerados os dendrogramas por meio do método UPGMA e uso de 20 marcadores RAPD.

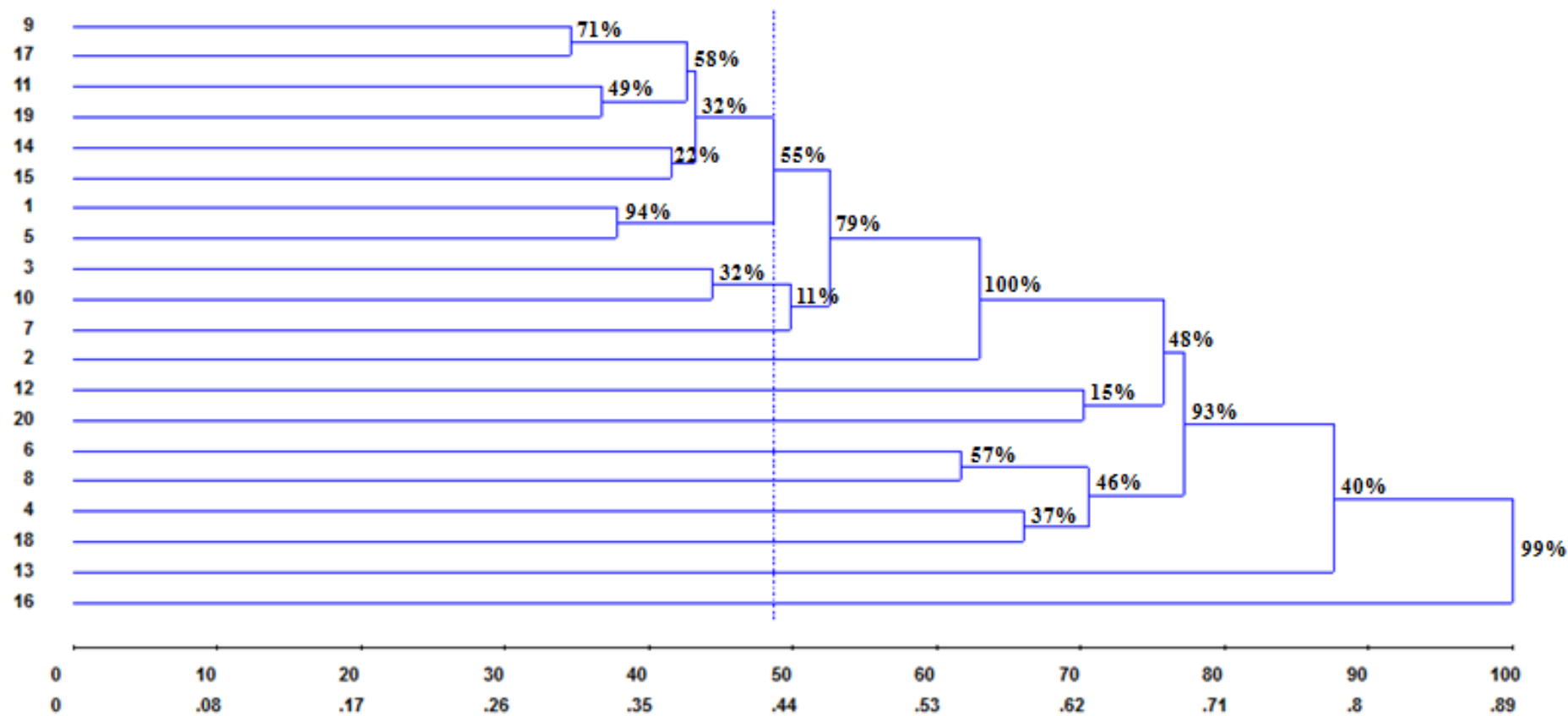


Figura 3. Dendrograma construído por meio do método UPGMA, com base no coeficiente de similaridade genética de Jaccard numa população natural de 20 indivíduos de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz, a partir de 20 marcadores RAPD.

Confrontando os dados obtidos na avaliação da diversidade genética com a localização dos indivíduos na área de estudo, observou-se que apesar de estarem distantes no campo, os indivíduos 09 e 17 são os mais similares geneticamente, enquanto que os indivíduos 09 e 16 são os mais divergentes (Figura 3), embora a planta 16 esteja localizada ao lado da planta 17. Observação diferente acontece com os indivíduos 14, 15 e 17, os quais estão próximos em campo e formaram o mesmo grupo genético, assim como os indivíduos 09 e 11. Em contrapartida, cerca de 800 metros separam o indivíduo 01 dos indivíduos 09 e 11 e ainda assim, a partir da análise do dendrograma foram agrupados no mesmo grupo. Em síntese, árvores fisicamente próximas e geneticamente dissimilares e árvores fisicamente distantes e geneticamente similares, ou seja, a população é caracterizada por indivíduos com diferentes níveis de parentesco, independentemente da distância física. Tal fato pode ser atribuído principalmente ao tipo de reprodução, modo de dispersão das sementes e polinização existentes nesta espécie.

A flor de *P. pyramidalis* é hermafrodita e seus aparelhos reprodutivos apresentam auto-incompatibilidade, havendo formação de frutos apenas em polinização cruzada manual e em polinização natural, ou seja, esta espécie é caracterizada pela presença de forte alogamia. Seus principais polinizadores constituem-se de abelhas (gêneros *Xylocopa* e *Centris*), eventualmente borboletas e com pouca frequência aves da espécie *Coereba flaveola*. Provavelmente essa ave, assim como as espécies de *Xylocopa* e *Centris*, possui longa distância de vôo, se deslocando com maior frequência entre diferentes indivíduos, promovendo o fluxo gênico via pólen (LEITE e MACHADO, 2009).

O coeficiente de correlação cofenética (CCC) (Tabela 3), obtido a partir da matriz de distância genética e a matriz de distância cofenética, a partir do dendrograma, foi elevado ($r=0,94^{**}$) e significativo, evidenciando, dessa forma, a consistência dos agrupamentos; coeficientes de correlação cofenética menores do que 0,7 indicam inadequação do método de agrupamento (ROHLF, 1970). Também foram obtidos 0,62% de distorção e 7,92% de estresse, considerados valores excelentes de acordo com a escala de Kruskal (1964). A baixa distorção e nível de estresse confirmam a boa representação da matriz de dissimilaridade na forma do dendrograma.

Tabela 3. Coeficiente de correlação cofenética entre a matriz de distâncias e o método de agrupamento hierárquico UPGMA, gerados a partir da análise de diversidade genética entre 20 indivíduos de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz por meio de marcadores RAPD.

Correlação cofenética (CCC)	Graus de liberdade	Valor de t	Distorção (%)	Estresse (%)
0,94**	188	39,95**	0,62	7,92

A análise dos componentes principais é realizada com objetivo de resumir o padrão de correlação entre as variáveis, levando assim, a um agrupamento delas e a um número menor de variáveis principais, as quais resumem a informação contida no grupo inicial, sendo cada componente principal uma combinação linear das variáveis originais (CRUZ et al., 2004).

A distribuição tridimensional da população de *P. pyramidalis*, através da análise dos componentes principais, também evidencia a grande diversidade existente nessa população (Figura 4). Pode-se observar a formação de sete grupos, o primeiro e maior formado pelos indivíduos 01, 03, 05, 07, 09, 10, 11, 14, 15, 17 e 19; o segundo composto apenas pelo indivíduo 02; o grupo três feito pelos indivíduos 06 e 12; o quarto grupo constituído pelos indivíduos 04 e 18; o grupo cinco pelos indivíduos 08 e 20; o sexto grupo completo apenas pelo indivíduo 13 e o grupo sete formado apenas pelo indivíduo 16. Esses dados, embora não totalmente, relacionam-se com aqueles obtidos através da análise de agrupamento utilizando o método UPGMA. O maior grupo originado pelo dendrograma também permaneceu agrupado na análise de componentes principais, com ressalva para inclusão de mais três indivíduos (03, 07 e 10); do mesmo modo, os indivíduos 02, 13 e 16, os quais agruparam-se de maneira isolada por meio do método UPGMA tenderam a comportar-se da mesma forma quando realizada a análise dos componentes principais.

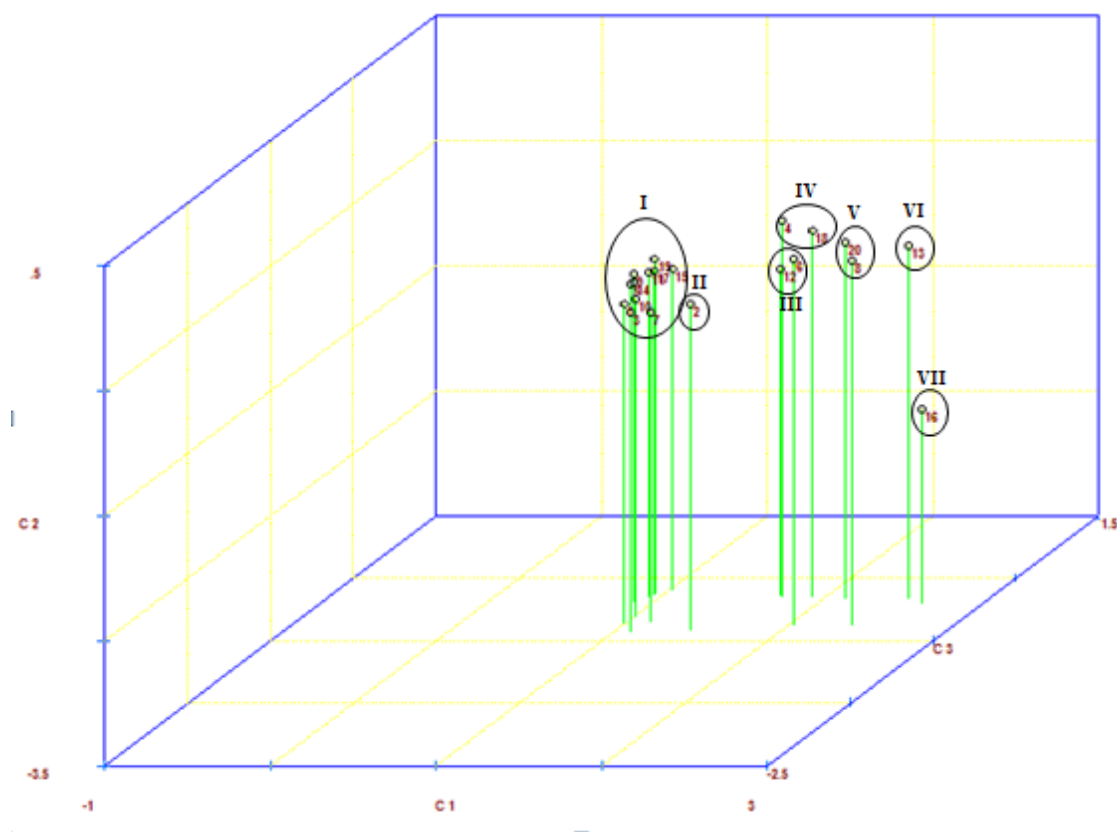


Figura 4. Análise dos componentes principais de uma população natural de 20 indivíduos de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz, avaliados através de marcadores moleculares RAPD.

4. CONCLUSÕES

Os indivíduos 09 e 17 revelam-se como os de maior similaridade genética, podendo fornecer material vegetal para avaliação do desempenho fisiológico de sementes de *Poincianella pyramidalis*;

O conjunto de indivíduos da população é caracterizado por alta diversidade genética e as sementes provenientes destes são indicadas para produção de mudas em projetos de restauração e/ou conservação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, L. A.; PEREIRA, I. M.; LEITE, U. T.; BARBOSA, M. R. V. Análise da cobertura de duas fitofisionomias de caatinga, com diferentes históricos de uso, no município de São João do Cariri, Estado da Paraíba. **Revista Cerne**, v. 11, n. 3, p. 253-262, 2005.

BEZERRA, A. K. D. **Qualidade fisiológica de sementes e diversidade genética em uma população de *Aspidosperma pyrifolium* Mart.** 2014. 69 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2014.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Viçosa: UFV, v. 1, 2004. 480 p.

CRUZ, C. D. **Programa genes:** aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 2006, 648 p.

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

FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados à conservação e uso de recursos genéticos.** Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.

GOIS, I. B.; FERREIRA, R. A.; SILVA-MANN, R.; PANTALEÃO, S. M.; GOIS, C. B.; OLIVEIRA, R. S. C. Variabilidade genética em populações naturais de *Ziziphus joazeiro* Mart. por meio de marcadores moleculares RAPD. **Revista Árvore**, v. 38, n. 4, p. 621-630, 2014.

JACCARD, P. Nouvelles recherches sur la distribution florale. **De la Société Vaudoise des Sciences Naturelles**, v. 44, n. 2, p. 223-270, 1908.

KRUSKAL, J. B. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. **Psychometrika**, v. 29, n. 1, p. 1-27, 1964.

LEITE, A. V., MACHADO, I. C. Biologia reprodutiva da "catingueira" (*Caesalpinia pyramidalis* Tul. Leguminosae-Caesalpinioideae), uma espécie endêmica da Caatinga. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, n. 1, p. 79-88, 2009.

LIMA, C. R. **Parâmetros ecofisiológicos de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz e sua relação com a variabilidade temporal das chuvas em áreas do Semiárido paraibano**. 2014. 142 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2014.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. São Paulo: D e Z, 2004. 413 p.

MENDES, R. F. M.; ARAUJO NETO, R. B.; NASCIMENTO, M. P. S. B. C.; LIMA, P. S. C. RAPD analysis of the genetic diversity among accessions of Fabaceous forages (*Poincianella* spp.) from the Caatinga. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 3, p. 5832-5839, 2014.

MOJEMA, R. Hierarquial grouping methods and stopping rules: an evaluation. **The Computer Journal**, v. 20, n. 4, p. 359-363, 1977.

PAREYN, F. G. C. A importância da produção não-madeireira na caatinga. In: GARIGLIO, M. A.; SAMPAIO, E. V. S. B.; CESTARO, L. A.; KAGEYAMA, P. Y. (Orgs.) **Uso sustentável e conservação dos recursos florestais da caatinga**. Brasília: Serviço Florestal Brasileiro, 2010. p. 129-139.

RABBANI, A. R. C.; SILVA-MANN, R.; FERREIRA, R. A. Variabilidade genética de *Genipa americana* L. pertencente ao baixo curso do Rio São Francisco. **Revista Árvore**, v. 36, n. 3, p. 401-409, 2012.

ROHLE, F. J. Adaptative hierarquical clustering schemes. **Systematic Zoology**, v. 19, n. 1, p. 58-82, 1970.

SAMPAIO, E. V. S. B.; GIULIETTI, A. M.; VIRGÍNIO, J.; GAMARRA-ROJAS, C. F. L. **Vegetação e Flora da Caatinga**. Recife: Associação Plantas do Nordeste, 2002. 176 p.

SANTOS, C. A. F.; OLIVEIRA, V. R.; KIILL, L. H. P.; SÁ, I. I. S. Variabilidade genética, com base em marcadores RAPD, de três espécies arbóreas ameaçadas de extinção no Semi-Árido brasileiro. **Scientia Forestalis**, n.74, p. 37-44, 2007.

SHIMIZU, J. Y. Estratégia complementar para conservação de espécies florestais ativas: resgate e conservação de ecótipos ameaçados. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 54, p. 7-35, 2007.

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

VELASCO-RAMÍREZ, A. P.; TORRES-MORÁN, M. I.; MOLINA-MORET, S.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, J. J.; SANTACRUZ-RUVALCABA, F. Efficiency of RAPD, ISSR, AFLP and ISTR markers for the detection of polymorphisms and genetic relationships in camote de cerro (*Dioscorea* spp.). **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 17, n. 2, p. 65-71, 2014.

WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, n. 22, p. 6531-6535, 1990.

ZHANG, L.; ZHANG, H. G.; LI, X. F. Analysis of genetic diversity in *Larix gmelinii* (Pinaceae) with RAPD and ISSR markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 1, p. 196-207, 2013.

CAPÍTULO II

DIVERSIDADE GENÉTICA EM UMA POPULAÇÃO DE *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (ANACARDIACEAE) ACESSADA POR MARCADORES MOLECULARES RAPD

DIVERSIDADE GENÉTICA EM UMA POPULAÇÃO DE *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (ANACARDIACEAE) ACESSADA POR MARCADORES MOLECULARES RAPD

RESUMO – *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. é uma espécie endêmica da Caatinga e com relevante potencial sócio-econômico, sendo que suas populações naturais correm o risco da total extinção devido ao processo de fragmentação pelo qual seu ecossistema natural vem passando. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a diversidade genética entre 20 indivíduos de *M. urundeuva* ocorrentes em três áreas naturais localizadas na Caatinga paraibana, utilizando-se marcadores RAPD, visando à coleta de sementes. Para a extração do DNA foram utilizadas brotações jovens dos indivíduos e a amplificação foi feita utilizando-se 28 iniciadores. As marcas obtidas foram convertidas em uma matriz binária, a partir da qual foi construída a matriz de dissimilaridade genética usando o complemento aritmético do coeficiente de Jaccard e a construção do dendrograma, utilizando-se o método UPGMA. Um total de 52 locos foram amplificados, dos quais apenas dois foram monomórficos, resultando em 97,78% de polimorfismo. O valor médio de diversidade genética entre os indivíduos foi de 47%, variando de 20,5 a 70,5%. Os indivíduos 04 e 09 foram os mais similares geneticamente, assim como os indivíduos 13 e 16, sendo maior divergência genética encontrada entre os indivíduos 03 e 10. Através da análise do dendrograma foi possível alocar os indivíduos em 12 grupos de similaridade genética. Com base nos resultados, os indivíduos 04 e 09, assim como 13 e 16 são importantes fornecedores de material vegetal para o estudo fisiológico de sementes; os indivíduos com maior dissimilaridade genética devem ser utilizados para produção de mudas em projetos de restauração florestal.

Palavras-chave: Análise Molecular, Aroeira, Polimorfismo

**GENETIC DIVERSITY IN A *Myracrodruon urundeuva* Fr. All.
(ANACARDIACEAE) POPULATION ACCESSED BY RAPD MOLECULAR
MARKERS**

ABSTRACT - *Myracrodruon urundeuva* Fr. All is an endemic species of the Caatinga with relevant socio-economic potential, and its natural populations are at risk of total extinction due to fragmentation process by which their natural ecosystem is facing. Accordingly, the objective of this study was to evaluate the genetic diversity among 20 individuals of *M. urundeuva* occurring in three natural areas located in the Caatinga of Paraíba, using molecular markers, in order to collect seeds. For DNA extraction were used young shoots of individuals and amplification was performed using primers 28. The markers were transformed into a binary matrix, from which was constructed the genetic dissimilarity matrix using Jaccard arithmetic complement and construction of dendrogram using the UPGMA method. It were amplified 52 loci, but only two of which were monomorphic, resulting in 97.78% of polymorphism. The average amount of genetic diversity among individuals was 47%, ranging from 20.5 to 70.5%. Individuals 04 and 09 were genetically more similar, as are the individuals 13 and 16, most genetic divergence found among individuals 03 and 10. Through the dendrogram analysis it was possible to allocate the groups of 12 subjects in the genetic similarity. Based on the results, the individuals 04 and 09, 13 and 16 are important for suppliers of plant material the seed physiological study; individuals with greater genetic dissimilarity should be used to produce seedlings for forest restoration projects.

Keywords: Molecular analysis, Aroeira, Polymorphism

1. INTRODUÇÃO

A Caatinga compreende um tipo de vegetação estacional decidual que cobre a maior parte da região semiárida no Nordeste, distribuindo-se por uma área equivalente a cerca de 800 mil km² (PRADO, 2003). É a única ecorregião de floresta tropical seca do mundo cercada por florestas úmidas e semiúmidas (BRASIL, 2006). Mesmo diante de sua importância, esse bioma vem sofrendo forte ação antrópica (ANDRADE et al., 2005), e aproximadamente meio milhão de hectares desta ecorregião são desmatados anualmente, dos quais, cerca de 30% dos produtos florestais extraídos são utilizados como energia na forma de carvão e lenha, impossibilitando muitas vezes, sua regeneração natural (CAMPELLO et al., 1999).

Apesar desse cenário, essa região apresenta grande variação ambiental e dentro dos recursos naturais, a cobertura vegetal é que apresenta o maior potencial para ajudar no desenvolvimento da região (QUEIROZ, 2011). No entanto, existe um considerável número de espécies vegetais pertencentes à Caatinga ameaçadas de extinção (BRASIL, 2008).

Dentre as espécies com potencial sócio-econômico e ameaçadas de extinção, destaca-se *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., com distribuição natural limitada à América do Sul, nativa do Brasil e amplamente distribuída nas regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste, ocorrendo também na Bolívia, Paraguai e Argentina (SANTIN e LEITÃO FILHO, 1991; GURGEL-GARRIDO et al., 1997; CARMELLO-GUERREIRO e PAOLI, 1999).

Esta espécie caracteriza-se por ser caducifólia e polinizada por insetos; atualmente, grande parte de suas populações encontram-se em área fragmentada de Caatinga, podendo sofrer perda de variabilidade genética por deriva, levando assim à ocorrência de endogamia. Como consequência pode haver reduções na sua capacidade adaptativa, no vigor, no porte e em sua produtividade (RITLAND, 1996; ANDRADE, et al., 2000; CARDERALLE, et al., 2013).

Estudos da variabilidade genética em populações naturais de plantas em regiões tropicais demonstram que estas preservam grandes quantidades de variabilidade dentro das populações, comparando-se com as existentes em outros ambientes, e a distribuição da variabilidade genética natural é influenciada por fatores como modo de reprodução das espécies, sistema de cruzamento, tamanho efetivo da população, distribuição geográfica e fluxo gênico (PAIVA, 1998).

Uma maneira eficiente para se conhecer a distribuição da diversidade genética dentro e entre populações de plantas é através da análise dos polimorfismos do DNA. O

baixo custo e a relativa facilidade de execução tornaram os marcadores RAPD uma ferramenta bastante utilizada, especialmente em espécies arbóreas. Além das dificuldades para obtenção de marcadores microssatélites, os marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) são muito aplicados para investigação da diversidade genética em populações naturais e caracterização de coleções de germoplasma (REIS; GRATTAPAGLIA, 2003).

O objetivo deste estudo foi avaliar a diversidade genética entre árvores matrizes de *M. urundeuva* provenientes de populações ocorrentes em três áreas de Caatinga, com vistas à coleta de sementes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Caracterização da área de coleta

Coletou-se estacas de 20 indivíduos de *Myracrodruon urundeuva* localizados em três áreas situadas nos municípios de São João do Cariri – Área 1 (A1) e Boa Vista – Áreas 2 (A2) e 3 (A3); estes indivíduos foram selecionados e georreferenciados por meio do método de trilhas.

Na região do município de São João do Cariri a pluviosidade média é de 350 mm anuais, com clima, segundo a classificação de Köppen, sendo do tipo Bsh' ou semiárido quente, com chuvas de verão-outono. No município de Boa vista as precipitações pluviométricas médias anuais são em torno de 400 mm e, segundo a classificação de Köpen, o clima é também do tipo Bsh' – semiárido quente.

A grande irregularidade do regime pluviométrico é o que caracteriza o clima dessas regiões, havendo anos de período chuvoso quase ausente (IBGE, 2005). A temperatura média anual está em torno de 24,5 °C e a vegetação é do tipo Caatinga hiperxerófila. Os recursos hídricos estão representados por rios intermitentes e por açudes que não permitem o abastecimento da população, a manutenção de uma atividade agrícola, nem a existência de uma pecuária de modo permanente (SOUSA, 2007).

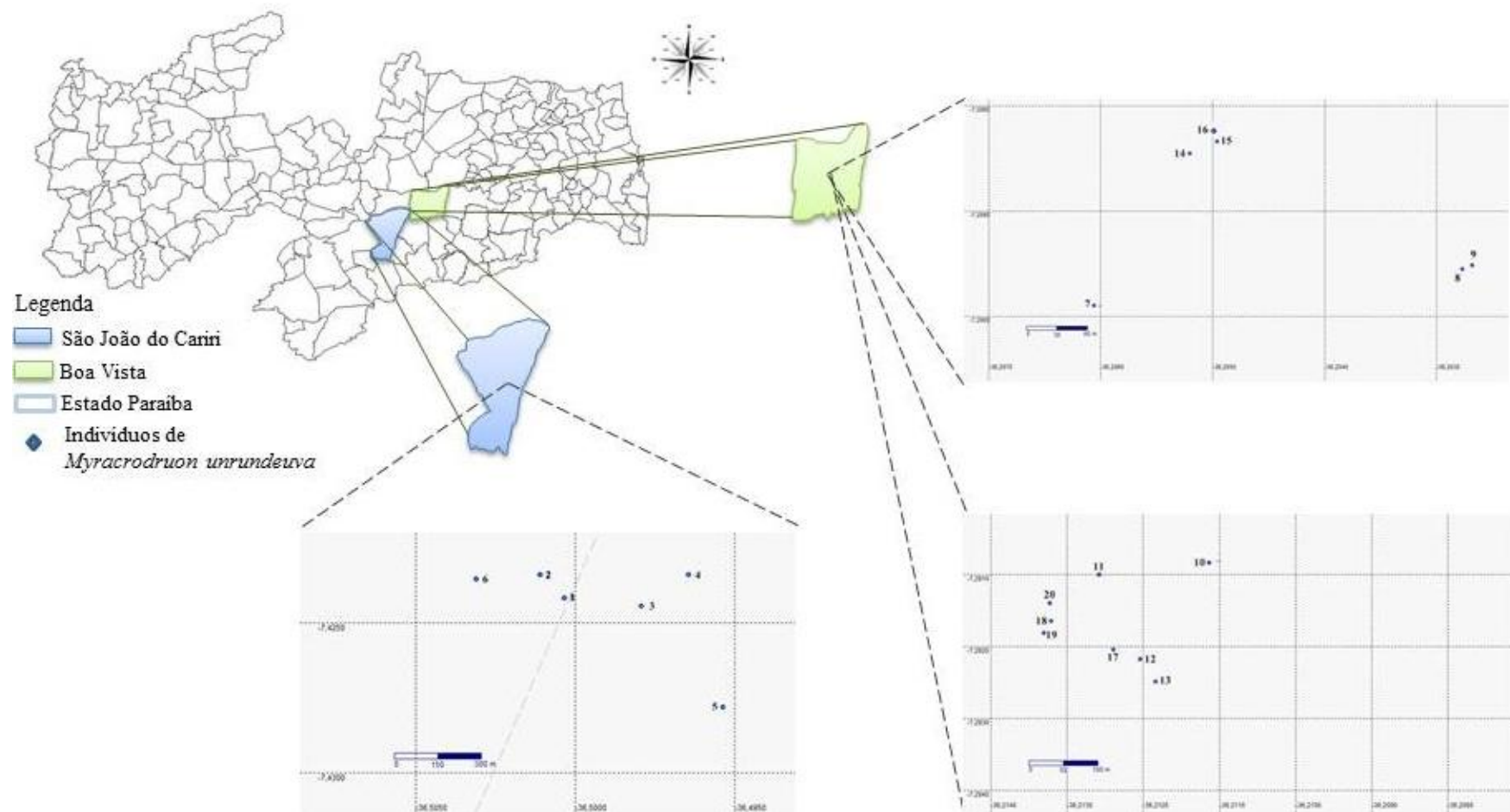


Figura 1. Dispersão gráfica dos 20 indivíduos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All.

2.2. Conservação do material vegetal

As estacas foram devidamente acondicionadas em sacos de polietileno e mantidas em caixas de poliestireno expandido a fim de se evitar a perda de umidade. Em seguida, o material foi encaminhado ao Laboratório de Análise de Sementes (LAS) do Centro de Ciências Agrárias da UFPB; as estacas foram postas em recipientes corretamente identificados e contendo água a fim de se induzir a formação de brotações.

O material vegetal (brotações) foi coletado e mantido em freezer para melhor conservação, posteriormente foi encaminhado ao Laboratório de Biotecnologia Vegetal (CCA/UFPB) para a extração do DNA.

2.3. Extração do DNA

A extração do DNA foi baseada no método descrito por Ferreira e Grattapaglia (1998) com modificações. Cerca de 200 mg de tecido vegetal de cada planta, foi macerado em nitrogênio líquido e depositado em microtubos de 1,5 mL. Foi adicionado em cada tubo 700 µL do tampão de extração (CTAB 2%, NaCl 1,4M, EDTA 20 mM, Tris-HCl pH = 8,0, água destilada, β-mercaptoetanol 2 µL), agitados manualmente por 1 minuto. Este material foi levado ao banho-Maria a 65°C por 30 minutos, homogeneizando-os manualmente a cada 10 minutos. Em seguida, resfriado a temperatura ambiente.

Adicionou-se 600 µL de CIA [clorofórmio-álcool isoamílico (24:1/v:v)] previamente congelado. Homogeneizou-se manualmente, invertendo-se cuidadosamente por aproximadamente 1 minuto. Posteriormente, os tubos foram centrifugados a 13.400 rpm durante 10 minutos. Os microtubos foram retirados da centrífuga e transferidos 600µL do sobrenadante para um novo microtubo; foi adicionado 500 µL de CIA e homogeneizados novamente por inversão.

Em seguida, foram centrifugados a 13.400 rpm durante 5 minutos e transferiu-se a fase superior ($\pm$ 400µL) para novo microtubo e adicionados 40µL do volume do tampão de lavagem (10g CTAB; 8,12 g de NaCl 1,4 M e água destilada até completar 100 mL) e homogeneizados por inversão durante 5 minutos.

Após a homogeneização foram adicionados 500 µL de CIA e centrifugado novamente a 13.400 rpm por 5 minutos. Transferiu-se 280 µL do sobrenadante para um novo microtubo e adicionou-se 185 µL de isopropanol gelado, misturando suavemente. Em seguida, centrifugou-se a 13.400 rpm por 5 minutos para formação do *pellet*.

Descartou-se o sobrenadante e adicionou-se 1 mL de etanol a 70%, deixando-se os microtubos sobre a bancada por 10 minutos. Após isso, o sobrenadante foi descartado. Esta operação foi repetida por duas vezes. Posteriormente, foram adicionados 1 mL de etanol absoluto e centrifugado 13.400 rpm por 2 minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi descartado e deixado sobre a bancada para secagem completa do *pellet*. Finalizando a etapa de extração do DNA, foi adicionado 50 µL de tampão TE [Tris-HCl (pH = 8,0, 1M) 10 mL, EDTA (1mM) 2mL, água destilada para completar 1000ml] para ressuspender o *pellet*. Os tubos foram armazenados a -20°C até o uso nas reações de RAPD.

2.4. Purificação do DNA

As amostras de DNA genômico dos indivíduos de *M. urundeuva* foram incubadas em banho-maria à 37 °C, com o DNA, na proporção de 1:1/2 RNase (40 ng/mL) (v:v), durante 12 minutos. Adicionou-se 1:10 de NaCl 5M seguido de 2/3 do volume de isopropanol gelado, sendo as amostras mantidas à -20 °C por 2 horas. Passado o período de incubação, as amostras foram centrifugadas, por 10 minutos à 14000 rpm. O sobrenadante foi removido e os microtubos lavados duas vezes com etanol 70% e uma vez com etanol 95%, sendo centrifugados à 14000 rpm durante 2 minutos a cada lavagem. Em seguida, o sobrenadante foi descartado cuidadosamente e os microtubos mantidos à temperatura ambiente para total evaporação do etanol; o precipitado foi ressuspensionado em 40 µL de tampão TE.

2.5. Quantificação do DNA

Para estimativa da presença, quantidade e integridade do DNA, o material foi submetido ao processo de eletroforese em gel de agarose 0,8%. Alíquotas de cada amostra de DNA foram aplicadas nos poços do gel e a concentração das amostras foi estimada por comparação visual da intensidade de fluorescência das bandas do DNA. A corrida foi realizada em tampão TAE 1X (Tris-acetato 0,04 M e EDTA 1 mM), a 80 volts e o gel, corado com brometo de etídio, foi fotografado sob luz UV, em um fotodocumentador tipo Gel logic 112.

2.6. Reação de RAPD

As reações de amplificação do DNA foram feitas utilizando-se um volume final de 25 µl, sendo 23 µl de Master Mix (Tampão 1x + MgCl₂ 3 mM + dNTP 200 mM + primer 1 mM + Taq DNA polimerase 1 U) e 2 µl de DNA genômico (50 ng) da amostra.

Para a obtenção das marcas de RAPD foram utilizados um total de 28 iniciadores de sequência aleatória: OPAT-01, OPAT-02, OPAT-03, OPAT-04, OPAT-05, OPAT-06, OPAT-07, OPAT-08, OPAT-09, OPAT-10, OPAT-11, OPAT-12, OPAT-13, OPAT-14, OPAT-15, OPAT-16, OPAT-17, OPAT-18, OPAT-19, OPAT-20, MEP-01, MEP-02, MEP-03, MEP-04, MEP-05, MEP-06, MEP-07 e MEP-08 (Tabela 1). Os iniciadores OPAT 01-20 foram utilizados com êxito para avaliação da diversidade de duas espécies do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae) (TOREZAN et al., 2005) (BEZERRA, 2014); os iniciadores MEP 01-08 foram desenvolvidos para avaliação de pimenteiras (*Capsicum* spp).

As reações de amplificação foram efetuadas em um termociclador com o seguinte programa: desnaturação inicial de 94 °C por 3 minutos; 40 ciclos, sendo cada ciclo constituído da seguinte sequência: 15 segundos a 94 °C, 30 segundos a 34 °C e 60 segundos a 72 °C; após os 40 ciclos, foi realizada a extensão final a 72 °C por sete minutos. Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese, em cuba horizontal, contendo tampão TBE 0,5 X, por um período de 1 hora, em gel de agarose 1,5% a 80 volts. Ao término da corrida, os géis foram fotografados sob luz UV, em um fotodocumentador tipo Gel logic 112.

2.7. Diversidade genética

A partir da leitura das bandas no gel foi construída uma matriz binária, em que (0) indicava ausência e (1), a presença de bandas; a partir da qual foi estimada as distâncias genéticas entre os indivíduos, gerando uma matriz de dissimilaridade, por meio do complemento aritmético (1-C) do coeficiente de similaridade de Jaccard (1908). A matriz de distâncias genéticas foi utilizada para realizar a análise de agrupamento por meio do dendrograma, utilizando-se o método de agrupamento hierárquico UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean*). Para o corte no dendrograma, adotou-se o critério proposto por Mojema (1977), o qual é baseado no tamanho relativo dos níveis de fusões (distâncias) no dendrograma. Também foi calculado o coeficiente de correlação cofenética e realizada a análise dos componentes principais, a qual se baseou na matriz de

distâncias genéticas, de modo a dispor os indivíduos em um gráfico tridimensional de dispersão. Todas as análises foram realizadas utilizando o Programa Genes (CRUZ, 2006).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 586 bandas amplificadas e 50 locos polimórficos foram gerados após a análise de RAPD, onde apenas dez dos vinte e oito iniciadores utilizados reproduziram produtos de amplificação, sendo que o número de fragmentos por iniciador variou de 1 (OPAT-09 e MEP-08) até 11 (OPAT-05), com uma média de 5 locos por iniciador, resultando em 97,78% de polimorfismo na população estudada (Tabela 1), caracterizando-a pela presença de alta diversidade genética. Este valor é superior ao polimorfismo (87,50% e 53,26%) relatado por Mendes et al. (2014) para *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz e *Poincianella bracteosa* (Tul.) L. P. Queiroz, respectivamente, ao avaliarem a diversidade genética dos acessos por meio de marcadores RAPD. Média de polimorfismo ainda menor foi relatada por Santana et al. (2008), os quais observaram 45,7% de variabilidade entre 8 indivíduos de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong..

Os iniciadores OPAT-05, MEP-01, MEP-02, MEP-04 e MEP-06 foram os mais adequados para avaliação da diversidade de *M. urundeuva*, pois produziram bandas nítidas e intensas (Figura 2).

A alta porcentagem de polimorfismo identificada neste estudo é de grande importância para adoção de estratégias conservacionistas e de manejo nas populações naturais analisadas, tendo-se em vista que, a intervenção humana nos ecossistemas, em especial nas suas espécies endêmicas, resulta na extração de árvores de maior vigor e melhor qualidade, restando apenas as de qualidade inferior para transmitir seus genes às próximas gerações, num processo disgênico que leva à degradação dos remanescentes (SHIMIZU, 2007).

Tabela 1. Iniciadores RAPD, sequências de nucleotídeos, número total de bandas amplificadas, locos polimórficos e monomórficos porcentagem de polimorfismo em populações de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. localizadas em área de Caatinga.

Iniciador	Sequência 5' → 3'	Nº total de bandas amplificadas	Nº de locos polimórficos	Nº de locos monomórficos	Polimorfismo (%)
OPAT - 01	CAGTGGTTCC	0	0	0	0
OPAT - 02	CAGGTCTAGG	0	0	0	0
OPAT - 03	GACTGGGAGG	0	0	0	0
OPAT - 04	TTGCCTCGCC	0	0	0	0
OPAT - 05	ACACCTGCCA	123	11	0	100
OPAT - 06	CCGTCCCTGA	0	0	0	0
OPAT - 07	ACTGCGACCA	0	0	0	0
OPAT - 08	TCCTCGTGGG	0	0	0	0
OPAT - 09	CCGTTAGCGT	1	1	0	100
OPAT - 10	ACCTCCGGTC	0	0	0	0
OPAT - 11	CCAGATCTCC	0	0	0	0
OPAT - 12	CTGCCTAGCC	0	0	0	0
OPAT - 13	CTGGTGGAAG	0	0	0	0
OPAT - 14	GTGCCGCACT	0	0	0	0
OPAT - 15	TGACGCACGG	0	0	0	0
OPAT - 16	CTCTCCGTAG	0	0	0	0
OPAT - 17	AGCGACTGCT	0	0	0	0
OPAT - 18	CCAGCTGTGA	0	0	0	0
OPAT - 19	ACCAAGGCAC	0	0	0	0
OPAT - 20	ACATCAGCCC	0	0	0	0
MEP - 01	AGACGGCTCC	130	7	2	77,78
MEP - 02	GTTGGAACC	62	6	0	100
MEP - 03	GGGCGACTAC	4	2	0	100
MEP - 04	GTGCGCAATG	118	9	0	100
MEP - 05	TCGCATCCAG	46	4	0	100
MEP - 06	CAGAAGCGGA	74	7	0	100
MEP - 07	CACAGCGACA	23	2	0	100
MEP - 08	CAAAGCGCTC	5	1	0	100
TOTAL		586	50	2	

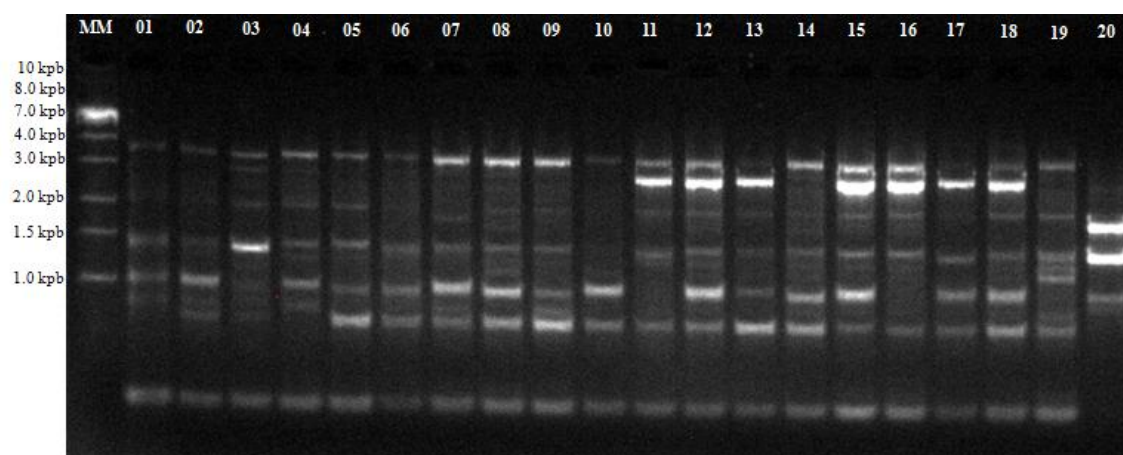


Figura 2. Produtos de amplificação de RAPD gerados com o iniciador OPAT-05 em 20 indivíduos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. MM – marcador de peso molecular Ladder 1 Kb.

Os valores da matriz de dissimilaridade com base no complemento do índice de similaridade de Jaccard (1908), utilizados para elaborar o dendrograma por meio da técnica de agrupamento UPGMA encontram-se na Tabela 2. As distâncias genéticas entre os 20 indivíduos de *M. urundeuva* variaram entre 0,205 (indivíduos 04 e 09) e 0,705 (indivíduos 03 e 10); sendo o valor médio de dissimilaridade genética observado nesta população equivalente a 0,470 (47%). Os indivíduos mais similares (04 e 09) encontram-se em áreas distintas, assim como os indivíduos 13 e 16, que também demonstraram proximidade genética (0,209) apesar de estarem geograficamente distantes. Por outro lado, os indivíduos 03 e 04, assim como 03 e 06, apresentaram relevante distância genética, 0,689 e 0,690, respectivamente, apesar de estarem localizados na mesma área em campo.

A diversidade genética entre populações de espécies florestais dos diferentes grupos sucessionais concentra-se principalmente dentro das populações. O fluxo gênico entre populações e entre indivíduos reduz as diferenças entre populações por deriva genética e seleção, diminuindo a diversidade interpopulacional (KAGEYAMA et al., 2003).

Na população de *M. urundeuva* estudada pode-se aplicar a prática de seleção, tomando como base os indivíduos mais divergentes geneticamente, os quais também podem ser selecionados para coleta de sementes.

Tabela 2. Matriz de distância genética entre 20 indivíduos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., oriundos de três populações localizadas em área de Caatinga.

INDIVÍDUOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	0	0,543	0,615	0,595	0,568	0,417	0,543	0,610	0,526	0,610	0,531	0,590	0,579	0,346	0,667	0,628	0,556	0,500	0,632	0,645
2		0	0,658	0,318	0,300	0,394	0,350	0,326	0,310	0,326	0,558	0,372	0,395	0,474	0,457	0,426	0,500	0,537	0,366	0,538
3			0	0,689	0,641	0,690	0,692	0,674	0,634	0,705	0,484	0,553	0,541	0,613	0,600	0,561	0,556	0,548	0,595	0,688
4				0	0,233	0,548	0,356	0,261	0,205	0,333	0,444	0,304	0,362	0,500	0,354	0,292	0,622	0,455	0,370	0,556
5					0	0,429	0,341	0,279	0,262	0,391	0,400	0,364	0,349	0,378	0,413	0,348	0,526	0,450	0,357	0,561
6						0	0,528	0,525	0,550	0,525	0,600	0,575	0,486	0,269	0,682	0,548	0,360	0,576	0,579	0,533
7							0	0,400	0,386	0,435	0,524	0,409	0,432	0,474	0,489	0,458	0,579	0,605	0,477	0,575
8								0	0,289	0,267	0,522	0,348	0,404	0,476	0,362	0,367	0,537	0,465	0,413	0,600
9									0	0,326	0,442	0,370	0,318	0,463	0,311	0,319	0,561	0,375	0,364	0,591
10										0	0,553	0,383	0,333	0,439	0,396	0,298	0,537	0,500	0,413	0,535
11											0	0,308	0,415	0,412	0,442	0,409	0,571	0,444	0,500	0,675
12												0	0,262	0,488	0,370	0,340	0,550	0,359	0,386	0,548
13													0	0,395	0,426	0,209	0,459	0,385	0,409	0,462
14														0	0,630	0,429	0,414	0,514	0,525	0,515
15															0	0,388	0,628	0,375	0,500	0,652
16																0	0,558	0,381	0,404	0,556
17																	0	0,588	0,514	0,548
18																		0	0,512	0,583
19																			0	0,513
20																				0

Através da análise de agrupamento, realizada com base nas distâncias genéticas, os 20 indivíduos de *M. urundeuva* foram alocados em doze grupos de similaridade genética, o ponto de corte foi 33,73%, realizado segundo os critérios de Mojema (1977); a consistência das bifurcações geradas pelo dendrograma variou de 18 a 100% entre os indivíduos avaliados (Figura 3).

O primeiro grupo foi formado pelos indivíduos 04, 09, 05, 02, 08 e 10; podendo-se observar dentro deste uma maior similaridade entre os indivíduos 04 e 09; os indivíduos 13, 16 e 12 integram o segundo grupo; o terceiro grupo é formado pelos indivíduos 06 e 14; os demais grupos (nove) foram formados de maneira individual, contendo apenas um indivíduo cada (19, 07, 15, 18, 01, 17, 03, 11, 20). Os indivíduos que alocaram-se nos mesmos grupos são similares geneticamente, isso pode ser reflexo do processo de fragmentação do ecossistema Caatinga, fazendo com que as populações naturais fiquem cada vez mais isoladas e com tamanho reduzido, favorecendo assim a ocorrência de cruzamentos entre indivíduos aparentados.

Na análise do dendrograma (Figura 3), os indivíduos não uniram-se de acordo com a sua distribuição geográfica, verificando-se a ocorrência de agrupamentos entre indivíduos localizados em áreas distintas assim como a formação de grupos individuais compostos por indivíduos localizados no mesmo espaço físico.

A diversidade genética interpopulacional em espécies florestais é bastante variável, demonstrando que o sistema reprodutivo, a dispersão do pólen e das sementes, além do estágio sucessional, são fatores determinantes da estrutura genética populacional (FOWLER e GLIENKE, 2008). *M. urundeuva* é uma espécie dióica, polinizada por himenópteros (principalmente abelhas sem ferrão), dípteros e coleópteros (KILL et al., 2010); ou seja, a dispersão do pólen ocorre por alogamia, além disso, as sementes são aladas podendo ser facilmente dispersas pelo vento e atingir longas distâncias.

De acordo com Bawa (1983), nas espécies dióicas tropicais, as plantas masculinas investem mais na produção de flores do que as femininas, garantindo assim maior produção de grãos de pólen, como forma de assegurar a reprodução cruzada.

Estudando a diversidade genética de progênies oriundas de duas populações de *M. urundeuva* através de marcadores microssatélites, Viegas et al. (2011) detectaram alta variabilidade genética, contudo, constataram a ocorrência de deriva genética no processo de reprodução, onde as frequências dos genes nas progênies mudaram em relação à população parental.

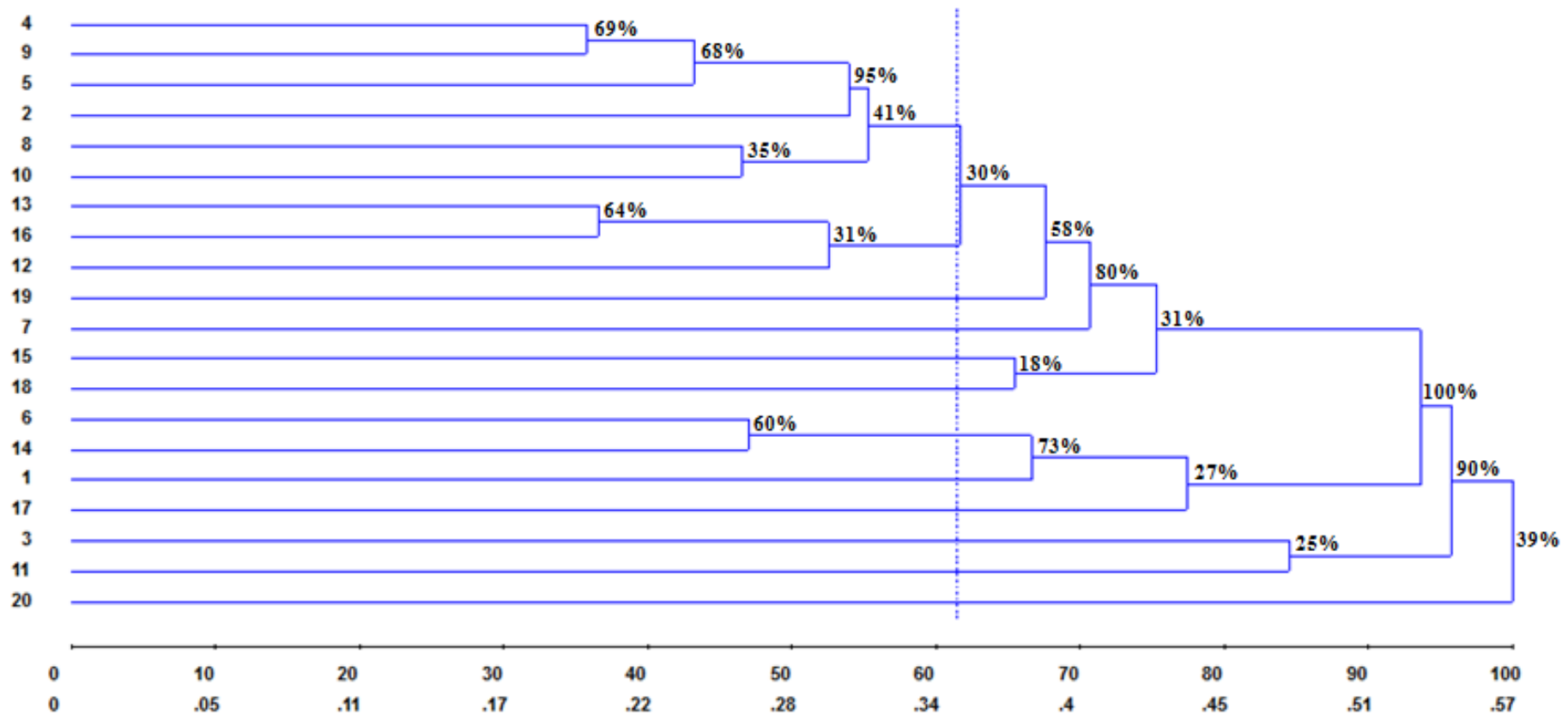


Figura 3. Dendrograma construído por meio do método UPGMA, com base no coeficiente de similaridade genética de Jaccard numa população natural de 20 indivíduos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., a partir de 20 marcadores RAPD.

A consistência dos agrupamentos é evidenciada por meio do coeficiente de correlação cofenética (CCC) (Tabela 3), o qual é obtido a partir da matriz de distância genética e a matriz de distância cofenética, a partir do dendrograma, no presente estudo este foi elevado ($r=0,82^{**}$) e significativo. Coeficientes de correlação cofenética menores do que 0,7 indicam inadequação do método de agrupamento (ROHLF, 1970). Também foram obtidos 1,86% de distorção e 13,65% de estresse, considerados valores bons de acordo com a escala de Kruskal (1964). A boa representação da matriz de dissimilaridade na forma do dendrograma é confirmada pela baixa distorção e nível de estresse encontrados.

Tabela 3. Coeficiente de correlação cofenética entre a matriz de distâncias e o método de agrupamento hierárquico UPGMA, gerados a partir da análise de diversidade genética entre 20 indivíduos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. por meio de marcadores RAPD.

Correlação cofenética (CCC)	Graus de liberdade	Valor de t	Distorção (%)	Estresse (%)
0,82**	188	19,58**	1,86	13,65

A análise dos componentes principais (Figura 4), também evidencia a grande diversidade existente nessa população de *M. urundeuva*. Pode-se observar a formação de seis grupos, o primeiro e maior formado pelos indivíduos 02, 04, 05, 07, 08, 09, 10, 12, 13, 15, 16 e 19; o segundo composto pelos indivíduos 11 e 18; o grupo três pelo indivíduo 20; o quarto grupo constituído pelos indivíduos 06, 14 e 17; o grupo cinco apenas pelo indivíduo 03; e o sexto grupo completo apenas pelo indivíduo 01. Esses dados, embora não totalmente, relacionam-se com aqueles obtidos através da análise de agrupamento utilizando o método UPGMA. Os componentes dos dois primeiros grupos gerados pelo dendrograma também permaneceram agrupados na análise de componentes principais, com ressalva para inclusão de mais três indivíduos (07, 15 e 19); do mesmo modo, os indivíduos 06 e 14, assim como no dendrograma, também permaneceram agrupados. Também vale destacar que, os indivíduos 01, 03 e 20, os quais agruparam-se de maneira isolada por meio do método UPGMA tenderam a comportar-se da mesma forma quando realizada a análise dos componentes principais.

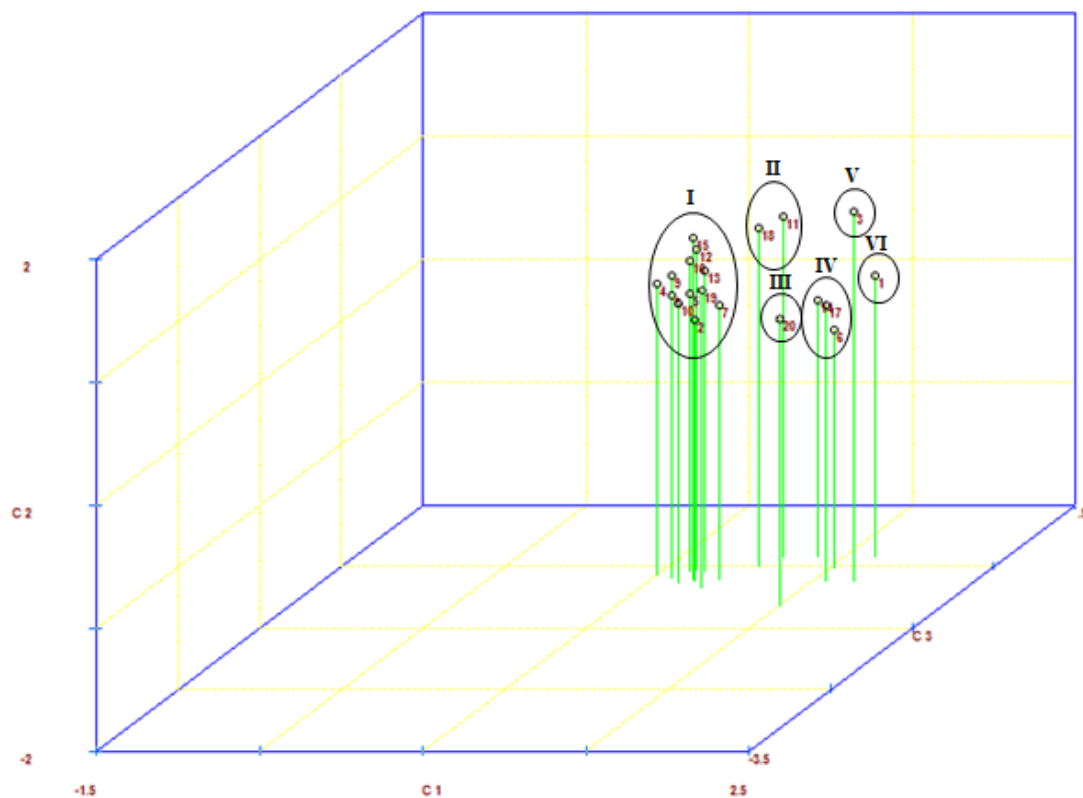


Figura 4. Análise dos componentes principais de uma população natural de 20 indivíduos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., avaliados através de marcadores moleculares RAPD.

4. CONCLUSÕES

Os indivíduos 04 e 09, assim como 13 e 16 são importantes fornecedores de material vegetal para confecção de lotes de sementes homogêneos e avaliação do potencial fisiológico de *Myracrodruon urundeuva*;

Os indivíduos mais divergentes geneticamente devem ser utilizados para produção de mudas da referida espécie em projetos de restauração florestal.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, M. W.; LUZ, J. M. Q.; LACERDA, A. S.; MELO, P. R. A. Micropropagação da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 24, n. 1, p. 174-180, 2000.

ANDRADE, L. A.; PEREIRA, I. M.; LEITE, U. T.; BARBOSA, M. R. V. Análise da cobertura de duas fitofisionomias de Caatinga, com diferentes históricos de uso, no município de São João do Cariri, Estado da Paraíba. **Cerne**, v. 11, n. 3, p. 253-262, 2005.

BAWA, K. S. 1983. Patterns of flowering in tropical plants. Pp. 394-410. In: C.E. Jones & R.J. Little (ed.). **Handbook of experimental pollination biology**. New York: Scientific and Academic.

BEZERRA, A. K. D. **Qualidade fisiológica de sementes e diversidade genética em uma população de *Aspidosperma pyrifolium* Mart.** 2014. 69 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2014.

BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). Instrução Normativa nº 6, de 23 de setembro de 2008. **Lista oficial das espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção**. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF, v. 145, n. 185, 24 set. 2008. Seção 1. p. 75-83.

CAMPELLO, F. B. **Diagnóstico florestal da região Nordeste**. Brasília: IBAMA; PNUD, 1999. 20 p.

CARDERALLI, A.; COSTA, R. B.; AZEVEDO, L. P. A.; RIBEIRO, E. S.; BATISTIA, B. M. F.; SOUSA, R. A. T. M. Seleção precoce em progênies de meios irmãos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. via metodologia reml/blup. **Ambiência**, v. 9 n. 3, p. 605-617, 2013.

CARMELLO-GUERREIRO, S.M.; PAOLI, A.A.S. Aspectos morfológicos e anatômicos da semente de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All - Anacardiaceae), com notas sobre paquicalaza. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 1, p. 222-228, 1999.

CRUZ, C.D. 2006. **Programa genes: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: UFV, 648 p.

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

FOWLER, J. A. P.; GLIENKE, C. **Diversidade genética em populações naturais de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia*) por marcador RAPD**. Colombo: Embrapa Florestas, 2008. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/315640>>. Acesso em: Fev de 2015.

GURGEL-GARRIDO, L. M. A.; CRUZ, S. F.; FARIA, H. H.; GARRIDO, M. A. O.; VILAS BOAS, O. Efeitos do sombreamento no crescimento da aroeira - *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Revista do Instituto Florestal**, v. 9, n. 1, p. 47-56, 1997.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Sistema IBGE de recuperação automática - SIDRA**, 2005. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: Fev de 2015.

JACCARD, P. Nouvelles recherches sur la distribution florale. **De la Société Vaudoise des Sciences Naturelles**, v. 44, p. 223-270, 1908.

KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M.; RIBAS, L. A.; GANDARA, F. B.; CASTELLEN, M.; PERECIM, M. B.; VENKOVSKY, R. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia Forestalis**, n. 64, p. 93-107, 2003.

KIILL, L. H. P.; MARTINS, C. T. V. D. SILVA, P. P. 2010. Biologia reprodutiva de duas espécies de Anacardiaceae da Caatinga ameaçadas de extinção. Pp. 337-364. In: ALBUQUERQUE, U. P.; MOURA, E. L.; ARAÚJO, E. L. (Org.). **Biodiversidade, potencial econômico e processos eco-fisiológicos em ecossistemas nordestinos**. Bauru, Canal6.

KRUSKAL, J. B. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. **Psychometrika**, v. 29, n. 1, p.1-27, 1964.

MENDES, R. F. M.; ARAUJO NETO, R. B.; NASCIMENTO, M. P. S. B. C.; LIMA, P. S. C. RAPD analysis of the genetic diversity among accessions of Fabaceous forages (*Poincianella* spp.) from the Caatinga. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 3, p. 5832-5839, 2014.

MOJEMA, R. Hierarquial grouping methods and stopping rules: an evaluation. **The Computer Journal**, v. 20, n. 4, p. 359-363, 1977.

PAIVA, J. R. **Melhoramento genético de espécies agroindustriais na Amazônia: estratégias e novas abordagens**. Brasília: EMBRAPA-SPI; Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 1998. 135 p.

PRADO, D. E. As caatingas da América do Sul. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. (Org.) **Ecologia e conservação da caatinga**. Recife: Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, 2003. p. 1-74.

QUEIROZ, M. A. Recursos genéticos vegetais da Caatinga para o desenvolvimento do semiárido brasileiro. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 4, n. 6, p. 1135-1150, 2011.

REIS, A. M. M.; GRATTAPAGLIA, D. RAPD variation in a germoplasm collection of RITLAND, K. Inferring the genetic basis of inbreeding depression in plants. **Genome**, v. 39, n. 1, p. 1-8, 1996.

ROHLE, F. J. Adaptative hierarquial clustering schemes. **Systematic Zoology**, v. 19, n. 1, p. 58-82, 1970.

SANTANA, G. C.; SILVA-MANN, R.; FERREIRA, R. A.; GOIS, I.; OLIVEIRA, A.; BOARI, A.; CARVALHO, S. Diversidade genética de indivíduos de *Enterolobium contortisiliquum* Vell. Morong., por meio de marcadores RAPD no Baixo Rio São Francisco. **Revista Árvore**, v. 32, n. 3, p. 427-433, 2008.

SANTIN, D. A.; LEITÃO FILHO, H. F. Restabelecimento e revisão taxonômica do gênero *Myracrodruon urundeuva* Freire Allemão (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 14, n. 2, p. 133-145, 1991.

SHIMIZU, J. Y. Estratégia complementar para conservação de espécies florestais ativas: resgate e conservação de ecótipos ameaçados. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 54, p. 7-35, 2007.

SOUSA, R. F. **Terras agrícolas e o processo de desertificação em municípios do semi-árido paraibano**. 2007. 180 f.: il. Tese (Doutorado Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais. Campina Grande-PB. 2007.

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

VIEGAS, M. P.; SILVA, C. L. S. P.; MOREIRA, J. P.; CARDIN, L. T.; AZEVEDO, V. C. R.; CIAMPI, A. Y.; FREITAS, M. L. M.; MORAES, M. L. T.; SEBBEN, A. L. Diversidade genética e tamanho efetivo de duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., sob conservação ex situ. **Revista Árvore**, v. 35, n. 4, p. 769-779, 2011.

CAPÍTULO III

QUALIDADE FISIOLÓGICA DE DIÁSPOROS DE *Myracrodruon urundeuva* Fr. Ail. (ANACARDIACEAE) SUBMETIDOS A DIFERENTES SUBSTRATOS E TEMPERATURAS

**QUALIDADE FISIOLÓGICA DE DIÁSPOROS DE *Myracrodruon urundeuva* Fr.
All. (ANACARDIACEAE) SUBMETIDOS A DIFERENTES SUBSTRATOS E
TEMPERATURAS**

RESUMO - *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae), conhecida vulgarmente como aroeira, possui elevado potencial sócio-econômico, sendo os frutos utilizados nas ciências farmacêuticas e a madeira na construção civil e no abastecimento de fornos industriais. Portanto, o conhecimento das condições que favoreçam a germinação dos diásporos desta espécie é de grande importância. Dessa forma, objetivou-se identificar os substratos e as temperaturas mais adequados para a avaliação da qualidade fisiológica de diásporos de *M. urundeuva*. O ensaio foi conduzido na Universidade Federal da Paraíba/CCA/Areia - PB, sendo utilizados diferentes substratos (entre e sobre): areia, vermiculita, basaplant[®], papel mata-borrão[®], e rolo de papel germitest[®] combinados com as temperaturas constantes de 20, 25, 30, 35, 40 °C e alternada de 20-30 °C. As variáveis analisadas foram: teor de água, germinação, comprimento de raiz principal e de parte aérea, massa seca de raízes e de parte aérea. Para obtenção de maiores percentuais de germinação em menor espaço de tempo, o teste de germinação deve ser conduzido sobre papel, a 30 °C; em rolo de papel, a qualquer temperatura, exceto 20 °C e 40 °C; em qualquer substrato, exceto entre areia e sobre vermiculita, a 35 °C; plântulas mais vigorosas são obtidas quando os diásporos são semeados sobre areia, a 25 °C. A temperatura constante de 40 °C é prejudicial à germinação dos diásporos e desenvolvimento inicial de plântulas de *M. urundeuva*.

Palavras-chave: Aroeira, Ecofisiologia, Espécie medicinal

**PHYSIOLOGICAL QUALITY OF *Myracrodruon urundeuva* Fr. All.
(ANACARDIACEAE) DIASPORES SUBJECT TO DIFFERENT SUBSTRATES
AND TEMPERATURES**

ABSTRACT – *Myracrodruon urundeuva* (Anacardiaceae), commonly known as *aroeira* has a high socio-economic potential, with fruit used in the pharmaceutical sciences and wood in the civil construction and supply of industrial ovens. Therefore, knowledge of the conditions that favor the germination of the seeds of this species is of great importance. This work aimed to identify the most suitable substrates and temperatures to evaluate the physiological quality of *M. urundeuva* diaspores. The essay was conducted at the Universidade Federal da Paraíba/ CCA/ Areia-PB, with different substrates (between and under): sand, vermiculite, basaplant®, mata-borrão® paper and germitest® combined with the constant temperature of 20, 25, 30, 35, 40 °C and alternating 20-30 ° C. The variables analyzed were: water content, germination, main root and shoot length, dry weight root and shoot. To obtain higher percentage of germination in a shorter time, the germination test should be conducted on paper at 30 °C; roll of paper, at any temperature other than 20 °C and 40 °C; on any substrate except between sand and vermiculite at 35 °C; more vigorous seedlings are obtained when the diaspores are sow on sand at 25 °C. The constant temperature of 40 °C is harmful to the germination of the seeds and initial development of *M. urundeuva* seedlings.

Keywords: Aroeira, Ecophysiology, Medicinal specie

1. INTRODUÇÃO

A espécie *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae), conhecida vulgarmente como aroeira é amplamente distribuída na América do Sul, sendo que no Brasil ocorre naturalmente nas regiões Nordeste, Sudeste e Centro-oeste (DORNELES et al., 2005). A mesma possui potencial sócio-econômico, sendo os frutos utilizados nas ciências farmacêuticas, a madeira na construção civil e no abastecimento de fornos de indústrias (MEDEIROS et al., 2000).

O conhecimento de tecnologias que favoreçam a germinação dos diásporos de *M. urundeuva* é de grande relevância para programas de conservação, uma vez que a mesma encontra-se na categoria vulnerável da lista de espécies ameaçadas de extinção (IBAMA, 2008), necessitando de estudos que garantam sua sobrevivência, viabilizando a utilização em solos não incorporados ao sistema produtivo da região (MELLONI et al., 2000).

O processo germinativo é influenciado por fatores como luz, temperatura, substrato e umidade da semente. Segundo Rebouças et al (2009), o conhecimento desses fatores é de fundamental importância para a compreensão dos aspectos ecofisiológicos das sementes, sendo de extrema necessidade subsidiar projetos que visem à produção e manejo sustentável de espécies nativas de uso popular.

A temperatura ótima para cada espécie é definida como aquela onde ocorre a maior porcentagem de germinação. Além de uma faixa ótima de temperatura para germinarem, algumas espécies, ainda precisam de alternância para que o processo ocorra satisfatoriamente (SANTOS e AGUIAR, 2000).

Para Wagner Júnior et al. (2006), a escolha do substrato adequado tem fundamental importância para a germinação das sementes, devendo conter boas condições de aeração, umidade e baixo grau de infestação por patógenos, uma vez que tais fatores influenciam diretamente no desencadeamento do processo germinativo.

Geralmente, os substratos comercializados têm características físico-químicas adequadas à formação inicial de diversas espécies, porém o alto custo pode inviabilizar a produção, necessitando de estudos a fim de obter um substrato composto por materiais de fácil acesso pelo produtor, com características químicas, físicas, biológicas e econômicas desejáveis (DANNER et al., 2007).

Constam na literatura estudos que visam identificar as condições de temperatura e substrato mais adequados para a germinação de sementes de *M. urundeuva*, entretanto, se faz necessário uma padronização, haja vista a importância da pesquisa para adequação de

testes laboratoriais de germinação com esta espécie, sendo o período das leituras relatadas bem diversificados. Dentre os trabalhos realizados, Pacheco et al. (2006) avaliaram oito substratos (entre e sobre: papel mata-borrão, areia, vermiculita e pó de coco) e sete temperaturas (25, 27, 30, 35, 20-27, 20-30 e 20-35 °C) na germinação de diásporos de *M. urundeuva*. Estes autores destacaram as temperaturas de 25 e 27 °C em todos os substratos testados, com exceção do substrato entre papel a 27 °C. Nesse estudo, os substratos vermiculita e pó de coco foram indicados devido à melhor manutenção da umidade durante a realização do teste (10 dias).

Em um estudo com sementes de *M. urundeuva*, Guedes et al. (2011a) testaram as temperaturas de 25, 30 e 35 °C constantes e 20-30 °C alternada, juntamente com os substratos areia, vermiculita, bioplant[®], plantmax[®], entre e sobre papel mata-borrão e papel-toalha organizado na forma de rolo, verificando que a temperatura de 30 °C e o substrato areia são os mais indicados para testes de germinação e vigor de sementes da espécie.

As instruções para análise de sementes de espécies florestais (BRASIL, 2013) recomendam a condução do teste de germinação de diásporos de aroeira em substrato rolo de papel, nas temperaturas de 25 ou 20-30 °C, com primeira contagem aos 14 e final aos 25 dias.

Diante do exposto, o objetivo neste trabalho foi obter os substratos e temperaturas mais adequados para a avaliação da qualidade fisiológica de diásporos de *M. urundeuva*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes (LAS), do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Paraíba, localizada no município de Areia - PB.

Os diásporos foram coletados de nove plantas, em 2012, no município de Santa Luzia - PB, sendo encaminhados ao LAS, onde, foram beneficiados (remoção das alas e impurezas) e homogeneizados.

Os substratos testados (entre e sobre) foram: areia, vermiculita, basaplant[®], papel mata-borrão e rolo de papel (germitest[®]), combinados com as temperaturas constantes de 20, 25, 30, 35, 40 °C e alternada de 20-30 °C, os quais foram umedecidos com água destilada, de acordo com Brasil (2009). O umedecimento dos substratos areia, vermiculita, basaplant[®] foi realizado visando-se atingir 60% da capacidade de retenção de água; os

substratos papel mata-borrão e rolo de papel foram umedecidos com volume de água equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco.

O efeito dos substratos e temperaturas sobre o desempenho germinativo das sementes de *M. urundeuva* foi avaliado pelas seguintes determinações e variáveis:

Teor de água - foi determinado pelo método padrão da estufa a 105 ± 3 °C, durante 24 horas, no qual se utilizaram quatro repetições de vinte e cinco diásporos, sendo a porcentagem de umidade calculada segundo Brasil (2009).

Teste de germinação - os diásporos foram postos para germinar em caixas de acrílico transparentes com dimensões de 11 x 11 x 3,5 cm de comprimento, largura e profundidade, respectivamente, contendo os substratos, os quais foram acondicionados em germinadores tipo B.O.D, permanecendo até o término do teste. As contagens das plântulas normais emersas foram realizadas diariamente, por um período de 10 dias, após a semeadura, quando houve estabilização (PACHECO et al., 2006), considerando-se normais as plântulas com características condizentes com as prescritas por Brasil (2009).

Comprimento de raiz principal e parte aérea de plântulas - ao final do teste de germinação as plântulas normais de cada repetição foram divididas em raiz e parte aérea, e mensuradas com o auxílio de uma régua graduada em centímetros, sendo os resultados expressos em centímetro por plântula.

Massa seca de raízes e parte aérea de plântulas - após a medição das plântulas, estas foram separadas, com o auxílio de tesoura, em raiz e parte aérea, sendo em seguida, colocadas em sacos de papel e acondicionadas em estufa com circulação de ar forçada, regulada a 65 °C, onde permaneceram até atingir peso constante. A pesagem do material seco foi realizada em balança com precisão de 0,0001 g e o peso para cada repetição foi dividido pelo número total de plântulas, obtendo-se, assim, o peso médio da massa seca por plântula, que foi expresso em miligrama por plântula.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em quatro repetições de 25 diásporos, com os tratamentos distribuídos em esquema fatorial 9 x 6 (substratos e temperaturas). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o teste F para comparação dos quadrados médios e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor médio de água dos diásporos de *Myracrodruon urundeuva* no momento da instalação do experimento foi de 10,4%. Verificou-se interação significativa ($P < 0,05$) entre substrato e temperatura para todas as variáveis avaliadas.

Na porcentagem de germinação de sementes de *M. urundeuva* (Tabela 1) verifica-se que as temperaturas constantes de 25 e 35 °C, além da alternada de 20-30 °C proporcionaram aos diásporos elevada germinação (variando entre 76 e 90%) em todos os substratos testados, exceto sobre vermiculita nas temperaturas de 25 e 20-30 °C; sobre areia na temperatura de 25 °C e entre areia na temperatura de 35 °C. Ainda destaca-se a importância da utilização do substrato rolo de papel tendo em vista a sua praticidade em laboratório; além disso, este é recomendado para a referida espécie nas temperaturas de 25 ou 20-30 °C, de acordo com as instruções para análise de sementes de espécies florestais (BRASIL, 2013).

Tabela 1. Porcentagem de germinação de diásporos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. submetidos a diferentes substratos e temperaturas.

Substratos	Temperaturas (°C)					
	20-30	20	25	30	35	40
SA	76 Aa	50 cB	70 bA	80 bA	81 aA	30 dC
EA	84 Aa	55 cC	85 aA	65 cB	40 bD	34 dD
SV	35 bC	40 dC	59 cB	80 bA	81 aA	28 dD
EV	80 Aa	81 aA	85 aA	81 bA	81 aA	52 bB
SB	80 Aa	75 aB	83 aA	86 bA	85 aA	66 aB
EB	90 aA	74 aB	82 aA	83 bA	86 aA	73 aB
SP	86 Aa	82 aA	88 aA	96 aA	89 aA	65 aB
EP	82 Aa	79 aA	80 aA	83 bA	89 aA	43 cB
RP	87 aA	70 bB	86 aA	82 bA	89 aA	50 bC
CV %	8,78					

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha e, minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

SA = Sobre areia; EA = Entre areia; SV = Sobre vermiculita; EV = Entre vermiculita; SB = Sobre basaplant[®]; EB = Entre basaplant[®]; SP = Sobre papel; EP = Entre papel e RP = Rolo de papel.

Os resultados encontrados neste estudo são semelhantes aos de Pacheco et al. (2006), em que 25 °C foi favorável ao processo de germinação das sementes, ainda de acordo com estes autores o substrato entre vermiculita seria o mais adequado devido à manutenção da umidade. Recomendação diferente foi indicada por Guedes et al. (2011), segundo os quais a temperatura de 30 °C e o substrato areia seriam os mais adequados para a condução de testes de germinação e vigor em sementes *M. urundeuva*.

Também foi observado que a 40 °C, independentemente do substrato, não houve baixa porcentagem de germinação para os diásporos de *M. urundeuva*. Segundo Bradbeer (1988), altas temperaturas podem facilitar a embebição, mas não permitem o crescimento do embrião ou o estabelecimento da plântula.

Para determinadas espécies, o desempenho germinativo das sementes é favorecido por alternância de temperatura, a exemplo de *Croton floribundus* Spreng (ABDO e PAULA, 2006) e temperaturas constantes, como em *Dimorphandra mollis* Benth. (PACHECO et al., 2010). A temperatura de 35 °C favoreceu a germinação de sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith (GUEDES et al., 2010), enquanto para *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp., a temperatura de 30 °C foi a mais favorável para a germinação das sementes e formação de plântulas (ROSSETO et al., 2009).

De acordo com Stockman et al. (2007), as sementes apresentam resposta fisiológica variável em temperaturas e substratos diferentes, a influência desses componentes sobre o processo de germinação poderá fornecer subsídios necessários para a área de análise de sementes florestais.

Para o índice de velocidade de germinação constata-se que os melhores resultados foram observados nas combinações entre a temperatura alternada de 20-30 °C no substrato rolo de papel; na temperatura constante de 25 °C no substrato sobre basaplant® e rolo de papel; na temperatura constante de 30 °C em todos os substratos testados, exceto entre areia; na temperatura constante de 35 °C em todos os substratos testados, exceto entre areia e sobre vermiculita (Tabela 2).

Avaliando a germinação de sementes de *Schinopsis brasiliensis* Engl. em diferentes substratos e condições de temperatura, Santos et al. (2014) obtiveram os maiores índice de velocidade de germinação no substrato vermiculita combinado com a temperatura alternada de 20-30 °C, com os substratos sobre papel, areia e vermiculita na temperatura de 25 °C e com o substrato rolo de papel na temperatura de 30 °C.

Tabela 2. Índice de velocidade de germinação de diásporos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. submetidas a diferentes substratos e temperaturas.

Substratos	Temperaturas (°C)					
	20-30	20	25	30	35	40
SA	7,77 cB	3,67 cD	6,33 bC	9,81 aA	10,00 aA	3,11 bD
EA	8,49 bA	2,93 cC	5,39 cB	7,64 bA	4,27 cB	3,50 bC
SV	2,64 eD	3,78 cC	4,89 cC	9,32 aA	7,14 bB	1,61 cD
EV	5,36 dC	5,41 bC	7,45 bB	10,40 aA	9,52 aA	2,89 bD
SB	7,47 cB	7,57 aB	9,98 aA	10,71 aA	10,53 aA	4,35 aC
EB	7,00 cB	6,34 bB	6,85 bB	10,05 aA	10,26 aA	5,34 aB
SP	8,50 bB	7,50 aB	8,98 aB	11,46 aA	11,10 aA	3,58 bC
EP	9,01 bB	6,51 bC	8,92 aB	10,42 aA	11,00 aA	4,25 aD
RP	10,56 aA	8,02 aB	10,02 aA	9,86 aA	11,11 aA	5,75 aC
CV %	14,01					

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha e, minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

SA = Sobre areia; EA = Entre areia; SV = Sobre vermiculita; EV = Entre vermiculita; SB = Sobre basaplant[®]; EB = Entre basaplant[®]; SP = Sobre papel; EP = Entre papel e RP = Rolo de papel.

As temperaturas acima da ótima aceleram o processo total de germinação, contudo, desorganizam-no e o número de sementes que conseguem completá-lo reduz rapidamente; temperaturas abaixo da ótima reduzem a velocidade da germinação, expondo as plântulas às condições adversas do ambiente (GUIMARÃES et al., 2006).

Os maiores índices de velocidade de germinação em menor espaço de tempo (Tabelas 1 e 2) podem ser obtidos na temperatura constante de 25 °C e alternada de 20-30 °C em substrato rolo de papel, assim como a 30 °C sobre areia.

Na tabela 3 observam-se os valores de comprimento de raiz principal de plântulas de *M. urundeuva*, cujos maiores valores foram obtidos quando se utilizou a combinação do substrato sobre areia nas temperaturas constantes de 20 e 25 °C; sobre vermiculita nas temperaturas constantes de 20 e 25 °C, bem como a alternada de 20-30 °C; sobre basaplant[®] nas temperaturas constantes de 25 e 30 °C; entre basaplant[®] na temperatura constante de 30 °C; entre papel na temperatura alternada de 20-30 °C e rolo de papel nas temperaturas constantes de 20, 25 e 35 °C. Provavelmente, nos referidos substratos tenham ocorrido maior aeração, o que, aliado a uma degradação mais eficiente das reservas presentes nas sementes, tenha favorecido o desenvolvimento das raízes, uma vez que nessa fase todo o desenvolvimento das plântulas se deve à composição química das sementes (GUEDES et al., 2011).

Tabela 3. Comprimento da raiz principal (cm) de plântulas de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. oriundas de sementes submetidas a diferentes substratos e temperaturas.

Substratos	Temperaturas (°C)					
	20-30	20	25	30	35	40
SA	1,81 bB	2,95 aA	3,30 aA	1,38 dB	1,42 cB	1,46 aB
EA	1,90 bA	2,17 bA	2,32 bA	1,36 dB	1,14 cB	1,67 aB
SV	2,48 aA	2,83 aA	3,17 aA	2,81 bA	2,13 bB	1,33 aC
EV	1,93 bB	2,56 bA	2,58 bA	2,58 bA	2,21 bB	1,06 aC
SB	2,09 bC	2,95 aB	3,60 aA	3,72 aA	2,82 aB	1,41 aD
EB	1,85 bC	2,57 bB	2,50 bB	3,37 aA	2,91 aB	1,42 aC
SP	1,82 bA	1,94 bA	2,00 cA	1,57 dB	1,34 cB	1,50 aB
EP	2,67 aA	2,45 bA	1,73 cB	2,26 cA	2,15 bA	1,05 aC
RP	2,19 bB	3,09 aA	3,05 aA	2,27 cB	3,00 aA	1,05 aC
CV %	17,12					

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha e, minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

SA = Sobre areia; EA = Entre areia; SV = Sobre vermiculita; EV = Entre vermiculita; SB = Sobre basaplant[®]; EB = Entre basaplant[®]; SP = Sobre papel; EP = Entre papel e RP = Rolo de papel.

Estudando o efeito de temperaturas e substratos em sementes de *M. urundeuva*, Pacheco et al. (2006) observaram para o comprimento da raiz primária que a utilização dos substratos entre e sobre areia a 27 °C, entre vermiculita a 20-35 °C, bem como o pó de coco em todas as temperaturas (exceto sobre pó de coco a 20-35 °C) proporcionaram melhor desenvolvimento do sistema radicular das plântulas. O maior comprimento de raiz primária de plântulas de *Amburana cearensis* (Allemão) foi observado nas temperaturas constantes de 30 e 35 °C e alternadas de 20-30 °C no substrato vermiculita (GUEDES et al., 2010).

Em relação aos dados de comprimento da parte aérea das plântulas de *M. urundeuva* (Tabela 4), quando os diásporos foram postos para germinar sobre areia nas temperaturas constantes de 20 e 25 °C, entre areia na temperatura alternada de 20-30 °C, sobre vermiculita nas temperaturas constantes de 25 e 30 °C, entre vermiculita nas temperaturas constantes de 20 e 25 °C, sobre basaplant[®] na temperatura constante de 35 °C, entre basaplant[®] na temperatura constante de 35 °C, sobre papel nas temperaturas de 20 e 40 °C, entre papel na temperatura de 20 °C; rolo de papel na temperatura constante de 20 e 30 °C e alternada de 20-30 °C originaram plântulas melhor desenvolvidas.

Tabela 4. Comprimento de parte aérea (cm) de plântulas de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. oriundas de sementes submetidas a diferentes substratos e temperaturas.

Substratos	Temperaturas (°C)					
	20-30	20	25	30	35	40
SA	3,45 Ba	2,87 aA	3,43 aA	3,16 bA	3,78 bA	2,02 bB
EA	4,22 aA	2,90 aB	3,57 aB	3,08 bB	3,45 bB	3,54 aB
SV	3,12 bA	2,88 aB	3,39 aA	3,59 aA	3,87 bA	2,17 bC
EV	3,39 bA	3,07 aA	3,66 aA	3,34 bA	3,48 bA	2,18 bB
SB	3,18 bC	3,01 aC	3,91 aB	3,87 aB	4,90 aA	2,23 bD
EB	4,00 aB	3,27 aC	4,04 aB	3,95 aB	4,68 aA	3,08 aC
SP	2,83 bA	2,84 aA	2,61 bA	2,48 cA	2,49 cA	3,00 aA
EP	3,19 bA	2,90 aA	2,88 bA	3,23 bA	3,57 bA	2,10 bB
RP	3,90 aA	3,57 aA	2,69 bB	3,69 aA	3,22 bA	2,10 bB
CV %	13,49					

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

SA = Sobre areia; EA = Entre areia; SV = Sobre vermiculita; EV = Entre vermiculita; SB = Sobre basaplant[®]; EB = Entre basaplant[®]; SP = Sobre papel; EP = Entre papel e RP = Rolo de papel.

As melhores combinações de temperatura e substrato para o comprimento da parte aérea das plântulas de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook F. ex. S. Moore foram 35 °C em rolo de papel, areia, pó de coco e tropstrato[®] (PACHECO et al., 2008).

Para as plântulas de *Adenanthera pavonina* L., Souza et al. (2007), constataram que o maior comprimento foi obtido quando as sementes foram postas para germinar na temperatura de 30 °C no substrato pó de coco, bem como a 35 °C em areia e vermiculita. Na mesma espécie Kissmann et al. (2008) verificaram maior comprimento da parte aérea a partir de sementes germinadas às temperaturas de 20-30, 25 e 30 °C, independentemente do substrato (rolo de papel e sobre papel).

Nas plântulas de *Peltophorum dubium* Spreng Taubert, os maiores comprimentos ocorreram quando as sementes foram submetidas à temperatura de 20-30 °C no substrato entre areia (ALVES et al., 2011).

Para os dados de massa seca de raízes das plântulas de *M. urundeuva* constatou-se que as melhores combinações, ou seja, que favoreceram o acúmulo de massa seca nas raízes foram os substrato sobre areia na temperatura constante 25 °C, entre areia na temperatura de 40 °C, entre basaplant[®] na temperatura de 30 °C e sobre papel nas temperaturas de 30 e 35 °C (Tabela 5).

Tabela 5. Massa seca de raízes (mg) de plântulas de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. oriundas de sementes submetidas a diferentes substratos e temperaturas.

Substratos	Temperaturas (°C)					
	20-30	20	25	30	35	40
SA	0,728 aC	2,228 aB	2,602 aA	0,307 aE	0,260 aE	0,467 cD
EA	0,192 cC	1,316 bA	1,036 bB	0,356 aC	0,261 aC	1,400 aA
SV	0,388 bC	0,797 cA	0,610 cB	0,392 aC	0,309 aC	0,908 bA
EV	0,250 cB	0,066 fC	1,086 bA	0,295 aB	0,369 aB	0,488 cB
SB	0,364 bB	0,591 dA	0,762 cA	0,334 aB	0,135 bB	0,244 dB
EB	0,382 bA	0,443 eA	0,317 dA	0,330 aA	0,058 bB	0,134 dB
SP	0,240 cA	0,397 eA	0,331 dA	0,245 aA	0,202 aA	0,375 cA
EP	0,179 cB	0,062 fB	0,321 dB	0,196 aB	0,204 aB	1,000 bA
RP	0,153 cB	0,333 eA	0,082 eB	0,157 aB	0,085 bB	0,375 cA
CV %	26,20					

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

SA = Sobre areia; EA = Entre areia; SV = Sobre vermiculita; EV = Entre vermiculita; SB = Sobre basaplant[®]; EB = Entre basaplant[®]; SP = Sobre papel; EP = Entre papel e RP = Rolo de papel.

Para *Phoenix roebelenii* O'Brien, Iossi et al. (2003) obtiveram maior conteúdo de massa seca nas raízes quando utilizaram os substratos areia e vermiculita. Pacheco et al. (2008) observaram que o maior conteúdo de massa seca no sistema radicular de plântulas de *Tabebuia aurea* (Ridl.) Sand. ocorreu quando as sementes que as originaram foram submetidas às temperaturas de 20-30 e 30 °C no substrato areia.

Pelos dados da tabela 6, referentes a massa seca da parte aérea das plântulas de *M. urundeuva* observa-se que o substrato sobre areia nas temperaturas constantes de 20 e 25 °C, entre areia na temperatura de 40 °C, entre vermiculita na temperatura de 25 °C, sobre basaplant[®] na temperatura alternada de 20-30 °C, entre basaplant[®] nas temperaturas constante de 30 e alternada 20-30 °C, sobre papel na temperatura alternada 20-30 °C; entre papel na temperatura constante de 40 °C e rolo de papel na temperatura alternada 20-30 °C foram às combinações que proporcionaram maior acúmulo de massa seca na parte aérea das plântulas.

Tabela 6. Massa seca de parte aérea (mg) de plântulas de *Myracrodruon urundeuva* oriundas de sementes submetidas a diferentes substratos e temperaturas.

Substratos	Temperaturas (°C)					
	20-30	20	25	30	35	40
AS	0,493 aB	0,883 aA	1,018 aA	0,642 bB	0,475 bB	0,530 eB
EA	0,591 aB	0,576 bB	0,638 cB	0,698 aB	0,759 aB	1,483 aA
SV	0,476 aB	0,561 bB	0,565 cB	0,545 bB	0,548 bB	1,153 bA
EV	0,440 aB	0,177 cC	1,106 aA	0,563 bB	0,556 bB	0,952 cA
SB	0,540 aA	0,584 bA	0,486 cA	0,551 bA	0,475 bA	0,376 eA
EB	0,752 aA	0,676 bA	0,530 cB	0,819 aA	0,466 bB	0,551 eB
SP	0,558 aA	0,635 bA	0,525 cA	0,533 bA	0,437 bA	0,725 dA
EP	0,496 aC	0,228 cD	0,868 bB	0,528 bC	0,572 bC	1,600 aA
RP	0,518 aA	0,587 bA	0,330 dB	0,537 bA	0,092 cC	0,725 dA
CV %	21,38					

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

SA = Sobre areia; EA = Entre areia; SV = Sobre vermiculita; EV = Entre vermiculita; SB = Sobre basaplant[®]; EB = Entre basaplant[®]; SP = Sobre papel; EP = Entre papel e RP = Rolo de papel.

O conteúdo de massa seca das plântulas de *Adenanthera pavonina* L. oriundas de sementes submetidas a diferentes temperaturas (18, 25, 30 e 20-30 °C) e substratos (rolo de papel e sobre papel) não diferiu significativamente (KISSMANN et al., 2008). No entanto, Guedes et al. (2010) observaram que as melhores combinações de temperatura e substrato para o comprimento da parte aérea das plântulas de *Amburana cearenses* (Allemão) foram a temperatura de 35 °C no substrato areia. Para *Peltophorum dubium* (Spreng) Taubert (ALVES et al., 2011) não houve influência das temperaturas e substratos sobre o conteúdo de massa seca.

O maior vigor dos diásporos de *M. urundeuva*, por meio da avaliação de comprimento e massa seca de plântulas (Tabelas 3, 4, 5 e 6) foi obtido na temperatura de 25 °C, correlacionando-se com resultados de Pacheco et al. (2006), com destaque para o substrato entre areia, visto que foi o único a adequar-se em todas as variáveis de vigor analisadas.

4. CONCLUSÕES

Para obtenção de maiores percentuais de germinação em menor espaço de tempo, o teste de germinação para diásporos de *Myracrodruon urundeuva* deve ser conduzido sobre papel, a 30 °C; em rolo de papel, a qualquer temperatura, exceto 20 e 40 °C; em qualquer substrato, exceto entre areia e sobre vermiculita, a 35 °C;

Diásporos de *M. urundeuva* semeados no substrato sobre areia a 25 °C produzem plântulas mais vigorosas;

A temperatura constante de 40 °C é prejudicial à germinação dos diásporos e desenvolvimento inicial de plântulas de *M. urundeuva*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDO, M. T. V. N.; PAULA, R. C. Temperaturas para a germinação de sementes de capixingui (*Croton floribundus* Spreng - Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 3, p. 135-140, 2006.

ALVES, E. U.; ANDRADE, L. A.; BRUNO, R. L. A.; VIEIRA, R. M.; CARDOSO, E. A. Emergência e crescimento inicial de plântulas de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taubert sob diferentes substratos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 439-447, 2011.

ALVINO, F. O.; RAYOL, B. P. Efeito de diferentes substratos na germinação de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb. (Bombacaceae). **Ciência Florestal**, v. 17, n. 1, p. 71-75, 2007.

BRADBEER, J. W. **Seed dormancy and germination**. New York: Chapman and Hall, 1988. 146 p. (Tertiary Level Biology).

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, Brasília: MAPA/ACS, 2013. 98 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395 p.

DANNER, M. A.; CITADIN, I.; FERNANDES JUNIOR, A. A.; ASSMANN, A. P.; MAZARO, S. M.; SASSO, S. A. Z. Formação de mudas de jabuticabeira (*Plinia* sp.) em diferentes substratos e tamanhos de recipientes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 1, p. 179-182, 2007.

DORNELES, M. C., RANAL, M., SANTANA D. G. Germinação de diásporos recém-colhidos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) ocorrente no cerrado do Brasil Central. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 2, p. 399-408, 2005.

GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; GONÇALVES, E. P.; BRAGA JÚNIOR, J. M.; VIANA, J. S.; COLARES, P. N. Q. Substratos e temperaturas para testes de germinação e vigor de sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith. **Revista Árvore**, v. 34, n. 1, p. 57-64, 2010.

GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; GONÇALVES, E. P.; COLARES, P. N. Q.; MEDEIROS, M. S. D.; VIANA, J. S. Germination and vigor of *Myracrodruon urundeuva* Allemão seeds in different substrates and temperatures. **Revista Árvore**, v. 35, n. 5, p. 975-982, 2011.

GUIMARÃES, R. M.; OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, A. R. Aspectos fisiológicos de sementes. **Informe Agropecuário**, v. 27, n. 232, p. 40-50, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS. **Lista oficial de flora ameaçada de extinção**. 2008. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/flora/extincao.htm>>. Acesso em: 07 Fev. 2015.

IOSSI, E.; SADER, R.; PIVETTA, K. F. L.; BARBOSA, J. C. Efeitos de substratos e temperaturas na germinação de sementes de tamareira-anã (*Phoenix roebelenii* O'Brien). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 2, p. 63-69, 2003.

KISSMANN, C.; SCALON, S. P. Q.; SCALON FILHO, H.; RIBEIRO, N. Tratamentos para quebra de dormência, temperaturas e substratos na germinação de *Adenanthera pavonina* L. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 2, p. 668-674, 2008.

MEDEIROS, A. C. S.; SMITH, R. D.; PROBERT, R.; SADER, R. Comportamento fisiológico de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) em condições de armazenamento. EMBRAPA, **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 40, p. 85-98, 2000.

MELLONI, R.; SILVA, F. A. M.; CARVALHO, J. G. Cálcio, magnésio e potássio como amenizadores dos efeitos da salinidade sobre a nutrição mineral e o crescimento de mudas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*). **Cerne**, v. 6, n. 2, p. 35-40, 2000.

PACHECO, M. V.; MATOS, V. P.; FELICIANO, A. L. P.; FERREIRA, R. L. C. Germinação de sementes e crescimento inicial de plântulas de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook F. ex S. Moore. **Ciência Florestal**, v. 18, n. 2, p. 143-150, 2008.

PACHECO, M. V.; MATOS, V. P.; FERREIRA, R. L. C.; FELICIANO, A. L. P.; PINTO, K. M. S. Efeito de temperaturas e substratos na germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae). **Revista Árvore**, v. 30, n. 3, p. 359-367, 2006.

PACHECO, M. V.; MATTEI, V. L.; MATOS, V. P.; SENA, L. H. M. Germination and vigor of *Dimorphandra mollis* Benth. seeds under different temperatures and substrates. **Revista Árvore**, v. 34, n. 2, p. 205-213, 2010.

REBOUÇAS, A.C.M.N. Aspectos ecofisiológicos da germinação de sementes de três espécies arbóreas medicinais da caatinga. 2009. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

ROSSETO, J.; ALBUQUERQUE, M. C. F.; RONDON NETO, R. M.; SILVA, I. C. O. Germinação de sementes de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp. (Fabaceae) em diferentes temperaturas. **Revista Árvore**, v. 33, n. 1, p. 47-55, 2009.

SANTOS, S. R. N.; BRUNO, R. L. A.; SILVA, K. R. G.; ALVES, E. U.; PACHECO, M. V.; ANDRADE, A. P. Adequacy of methodology for germination of diaspores of barauna, *Schinopsis brasiliensis* (Anacardiaceae). **Bioscience Journal**, v. 30, n. 2, p. 737-745, 2014.

SANTOS, S.R.; AGUIAR, I.B. Germinação de sementes de branquilha (*Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Downs) em função do substrato e do regime de temperatura. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 1, p. 120-126, 2000.

SOUSA, M. P.; BRAGA, L. F.; BRAGA, F. J.; SÁ, M. E.; MORAES, M. L. T. Influência da temperatura na germinação de sementes de sumaúma (*Ceiba pentandra* (Linn.) Gaertn. - Bombacaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 1, p. 110-119, 2000.

SOUZA, E. B.; PACHECO, M. V.; MATOS, V. P.; FERREIRA, R. L. C. Germinação de sementes de *Adenanthera pavonina* L. em função de diferentes temperaturas e substratos. **Revista Árvore**, v. 31, n. 3, p.437-443, 2007.

STOCKMAN, A. L.; BRANCALION, P. H. S.; NOVEMBRE, A. D. L. C.; CHAMMA, H. M. C. P. Sementes de ipê-branco (*Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sand. - Bignoniaceae): temperatura e substrato para o teste de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 3, p. 139-143, 2007.

WAGNER JÚNIOR, A; ALEXANDRE, R.S.; NEGREIROS, J.R.S.; PIMENTEL, L.D.; SILVA, J.O.C.; BRUCKNER, C.H. Influência do substrato na germinação e desenvolvimento inicial de plantas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa* Deg.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 4, p. 643-647, 2006.