

**JONIS FRANKLIN LEITE DOS SANTOS**

**DIVERSIDADE GENÉTICA, ASPECTOS REPRODUTIVOS, DIVERGÊNCIA E  
CORRELAÇÃO ENTRE CARACTERES DE FRUTO E SEMENTE DE *Byrsonima  
cydoniifolia* A. JUSS. COM OCORRÊNCIA NATURAL NA REGIÃO LESTE DO  
ESTADO DE MATO GROSSO, BRASIL.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Carlos Eduardo M. dos Santos

Coorientadora: Ana Aparecida B. Rossi

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2024**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa

T

S237d Santos, Jonis Franklin Leite, 1969-  
2024 Diversidade genética, aspectos reprodutivos, divergência e  
correlação entre caracteres de fruto e semente de *Byrsonima  
cydoniifolia* A. Juss. com ocorrência natural na região leste do  
estado de Mato Grosso, Brasil / Jonis Franklin Leite Santos. –  
Viçosa, MG, 2024.

1 tese eletrônica (82 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Carlos Eduardo Magalhães dos Santos.  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Agronomia, 2024.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.479>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Murici (Planta) - Variação. 2. Murici (Planta) -  
Reprodução. 3. Cerrados. I. Santos, Carlos Eduardo Magalhães  
dos, 1980-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de  
Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Genética e  
Melhoramento. III. Título.

CDD 22. ed. 634.97379

Bibliotecário(a) responsável: Alice Regina Pinto Pires CRB-6/2523


**JONIS FRANKLIN LEITE DOS SANTOS**

**DIVERSIDADE GENÉTICA, ASPECTOS REPRODUTIVOS, DIVERGÊNCIA E  
CORRELAÇÃO ENTRE CARACTERES DE FRUTO E SEMENTE DE *Byrsonima  
cydoniifolia* A. JUSS. COM OCORRÊNCIA NATURAL NA REGIÃO LESTE DO  
ESTADO DE MATO GROSSO, BRASIL.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.


APROVADO: 10 de junho de 2024.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente  
 JONIS FRANKLIN LEITE DOS SANTOS  
Data: 09/08/2024 17:30:36-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Jonis Franklin Leite dos Santos  
Autor

Documento assinado digitalmente  
 CARLOS EDUARDO MAGALHAES DOS SANTOS  
Data: 12/08/2024 08:20:20-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Carlos Eduardo Magalhães dos Santos  
Orientador

*A minha digníssima esposa Denise Borkenhagen dos Santos, pelo amor, carinho, companheirismo, compreensão e exemplo de mulher na qual me orgulho por ser seu esposo.*

*As minhas filhas Ingridys Regina Borkenhagen dos Santos, Ísis Caroline Borkenhagen dos Santos e genro Danilo Silva Santos pela força e companheirismo em todos os momentos da  
minha vida.*

*A minha irmã Maura Leite dos Santos, pelas orações, força, fé, amizade e companheirismo.*

*Aos meus pais (in memoriam), Lindolfo Ferreira dos Santos e Rita Leite dos Santos, pelo apoio e luta incansável deixado como exemplo aos filhos.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me acompanhar sempre, dando força e segurança para superar os desafios da vida. Agradeço também pela família que tenho.

À minha esposa Denise Borkenhagen dos Santos, por sempre me apoiar em todas as etapas da minha vida.

Às minhas filhas Ingridys Regina Borkenhagen dos Santos, Ísis Caroline Borkenhagen dos Santos e genro Danilo Silva Santos pela amizade, apoio e suporte a quem posso confiar e buscar apoio.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À minha coorientadora professora Ana Aparecida Bandini Rossi, que tanto admiro pelos ensinamentos, apoio, suporte, amizade, momentos de alegria e descontração e pela oportunidade de trabalhar com uma equipe de laboratório com valor inestimado.

Ao meu orientador professor Carlos Eduardo Magalhães dos Santos, pelos grandes ensinamentos proporcionado.

Aos grandes amigos do laboratório (GenBioMol), pela união, companheirismo e momentos de descontração e alegria.

Aos meus irmãos da fé que sempre contribuíram com as vossas orações e incentivo.

A meus familiares, por estarem sempre dispostos e de braços abertos a me ajudar. A todos os amigos que de alguma forma fazem parte da minha história.

**MUITO OBRIGADO!!**

## BIOGRAFIA

Jonis Franklin Leite dos Santos, filho de Lindolfo Ferreira dos Santos e de Rita Leite dos Santos, irmão de: Maura Leite dos Santos, Anália Leite dos Santos, Vecionália Teodoro dos Santos, Valdenor Leite dos Santos, João Leite dos Santos, Aristides Leite dos Santos, Maria de Jesus Leite dos Santos, Antonio Leite dos Santos (*in memorian*), Pedro Pedrossian Leite dos Santos (*in memorian*), Hélio Fernandes Leite dos Santos e Rosa Leite dos Santos. Nascido em Cocalinho – MT no dia 16 de dezembro de 1969. Em 1992 conclui o ensino médio em técnico em contabilidade na Escola Estadual Vitória Furlani da Riva. No ano de 1993 ingressou no curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus de Alta Floresta, concluindo em outubro de 1997. Em 1999 ingressou também no primeiro curso de especialização pela UNEMAT, Sistemas Agroflorestais, concluindo no ano de 2000. No ano de 2012 ingressou em outro curso de especialização pela União das Faculdades de Alta Floresta (UNIFLOR) em Psicopedagogia Clínica e Institucional, concluindo o mesmo em 2013. Já em 2014 iniciou o curso de graduação em Licenciatura Plena em Pedagogia, pelo Instituto Prominas, concluindo em 2017. Ainda em 2017 iniciou o Mestrado no Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas – UNEMAT – Campus de Alta Floresta, concluindo em fevereiro de 2019, sobre a orientação da prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Aparecida Bandini Rossi, e em 2020 ingressou no curso de Doutorado pelo programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas pela Universidade Federal de Viçosa – MG, concluindo o mesmo em 10 de junho de 2024, sobre a orientação do prof<sup>o</sup>. Dr. Carlos Eduardo Magalhães dos Santos. Desempenhando na data de conclusão do curso o cargo de professor efetivo da rede municipal de ensino do município de Alta Floresta – MT, com 28 anos de dedicação.

## RESUMO

SANTOS, Jonis Franklin Leite dos, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2024. **Diversidade genética, aspectos reprodutivos, divergência e correlação entre caracteres de fruto e semente de *Byrsonima cydoniifolia* A. JUSS. com ocorrência natural na região leste do estado de Mato Grosso, Brasil.** Orientador: Carlos Eduardo Magalhães dos Santos. Coorientadora: Ana Aparecida Bandini Rossi.

O muricizeiro (*Byrsonima cydoniifolia*) é uma espécie arbórea frutífera com potencial de mercado devido a qualidade de seus frutos, porém o conhecimento sobre os aspectos reprodutivos e diversidade genética desta espécie são escassos. Diante disso, o estudo teve por objetivo avaliar a diversidade genética por meio de marcadores moleculares, verificar o comportamento meiótico e a viabilidade polínica, bem como a divergência genética e a caracterização biométrica dos frutos e sementes de *B. cydoniifolia* na região leste do estado de Mato Grosso (MT). A diversidade e estrutura genética foi avaliada em 128 indivíduos, distribuídos em quatro populações nativas na região leste do estado de Mato Grosso, por meio de doze marcadores moleculares microssatélites. Os aspectos reprodutivos foram verificados por meio da viabilidade polínica via teste colorimétrico, comportamento meiótico e relação pólen/óvulo, em 20 indivíduos coletados na região leste do MT. A divergência genética e a caracterização biométrica dos frutos e sementes, foram avaliadas em 40 indivíduos de muricizeiros nativos da região leste do MT, por meio das técnicas de análise multivariada. Na avaliação molecular, foram amplificados 132 alelos, com média de 11 alelos por locus. O PIC médio foi de 0,667.  $H_e$  foi maior que  $H_o$  para todos os *loci* e populações analisadas. O índice de fixação médio por *primers* foi 0,639 e 0,615 por população, demonstrando que as populações apresentam endogamia. Foram encontrados 117 alelos raros, 43 alelos exclusivos e 26 alelos raros mais exclusivos nas populações. O maior componente de variação genética foi intrapopulacional. As populações dos municípios de Barra do Garças e Cocalinho foram as mais divergentes entre as analisadas. A classificação morfológica dos grãos de pólen, apresentou polens prolato-esferoidal, pequenos, 3-colporados, com colpo denominando-se grãos de pólen tricolporados de área polar grande e exina microrreticulada. O índice meiótico diferiu entre as populações e entre os indivíduos, sendo superior a 95%. A viabilidade polínica foi eficiente na distinção dos pólenes viáveis e inviáveis e superior a 90%. Os grãos de pólen possuem amido e lipídeos como substância de reserva. A divergência genética entre indivíduos de muricizeiros, apresentou cinco grupos distintos com base no método UPGMA e sete grupos no Tocher e dispersão gráfica. Os três primeiros componentes principais explicaram 83,83% da variação total. A característica °brix apresentou a maior contribuição relativa para a diferenciação dos

indivíduos. Os frutos e sementes apresentaram fortes correlações positivas e negativas, evidenciando frutos com maior quantidade de massa. As populações avaliadas apresentam diversidade genética e devem ser conservadas, pois constituem fontes promissoras para programas de melhoramento genético. As informações sobre os aspectos reprodutivos, auxiliarão a compreender a ecologia, conservação, dispersão e o potencial de propagação que garante o sucesso reprodutivo da espécie. As variações divergentes e biométricas na espécie, mostrou potencial para programas de melhoramento.

**Palavras-chave:** Murici; Recursos Genéticos; Conservação; Potencial; Melhoramento Genético.

## ABSTRACT

SANTOS, Jonis Franklin Leite dos, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2024. **Genetic diversity, reproductive aspects, divergence and correlation between fruit and seed characters of *Byrsonima cydoniifolia* A. JUSS. with natural occurrence in the eastern region of the state of Mato Grosso, Brazil.** Adviser: Carlos Eduardo Magalhães dos Santos. Co-adviser: Ana Aparecida Bandini Rossi.

The muricizeiro (*Byrsonima cydoniifolia*) is a fruit tree species with market potential due to the quality of its fruits, however knowledge about the reproductive aspects and genetic diversity of this species is scarce. Therefore, the study aimed to evaluate genetic diversity through molecular markers, verify meiotic behavior and pollen viability, as well as genetic divergence and biometric characterization of the fruits and seeds of *B. cydoniifolia* in the eastern region of the state of MT. Genetic diversity and structure was evaluated in 128 individuals, distributed in four native populations in the eastern region of the state of Mato Grosso, using twelve microsatellite molecular markers. Reproductive aspects were verified through pollen viability via colorimetric test, meiotic behavior and pollen/ovule ratio, in 20 individuals collected in the eastern region of MT. The genetic divergence and biometric characterization of fruits and seeds were evaluated in 40 individuals from muric trees native to the eastern region of MT, using multivariate analysis techniques. In the molecular evaluation, 132 alleles were amplified, with an average of 11 alleles per locus. The average PIC was 0.667. He was greater than  $H_o$  for all loci and populations analyzed. The average fixation index for primers was 0.639 and 0.615 per population, demonstrating that the populations present inbreeding. 117 rare alleles, 43 exclusive alleles and 26 more exclusive rare alleles were found in the populations. The largest component of variation was intrapopulation. The populations of Barra do Garças and Cocalinho were the most divergent among the four analyzed. The morphological classification of pollen grains showed prolato-spheroidal, small, 3-colporate pollens, with colpus being called tricolporate pollen grains with a large polar area and microreticulate exine. The meiotic index differed between populations and individuals, being greater than 95%. Pollen viability was efficient in distinguishing viable and non-viable pollen and exceeded 90%. Pollen grains have starch and lipids as reserve substances. The genetic divergence between individuals of muricizeiros presented five distinct groups based on the UPGMA method and seven groups on the Tocher and graphic dispersion method. The first three principal components explained 83.83% of the total variation. The °brix characteristic presented the greatest relative contribution to the differentiation of individuals. The fruits and seeds showed strong positive and negative correlations, showing fruits with a greater amount of mass. The populations evaluated present

genetic diversity and must be conserved, as they constitute promising sources for genetic improvement programs. Information on reproductive aspects will help to understand the ecology, conservation, dispersal and propagation potential that guarantees the reproductive success of the species. The divergent and biometric variations in the species showed potential for improvement programs.

**Keywords:** Murici; Genetic Resources; Conservation; Potential; Genetic Improvement.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL .....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	13
2.1 Espécie em Estudo .....	13
2.2 Diversidade genética populacional .....	15
2.3 Viabilidade polínica e índice meiótico .....	15
2.4 Caracterização biométrica de frutos e sementes .....	16
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	17
4. CAPÍTULOS .....	21
4.1 CAPÍTULO I .....	21
RESUMO .....	21
INTRODUÇÃO .....	21
MATERIAL E MÉTODOS .....	22
Área de estudo e amostragem .....	22
Extração do DNA .....	24
Caracterização molecular e amplificação via PCR .....	26
Análise dos dados .....	28
RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	29
CONCLUSÕES .....	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	39
4.2 CAPÍTULO II .....	43
RESUMO .....	43
INTRODUÇÃO .....	43
MATERIAL E MÉTODOS .....	45
Área de estudo .....	45
Coleta dos botões florais .....	46
Caracterização morfológica do pólen .....	47
Razão pólen/óvulo (P/O) .....	49
Índice meiótico .....	50
Viabilidade polínica via teste colorimétrico .....	50
Citoquímica polínica .....	50
Análises Estatística .....	51
RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	51
Caracterização morfológica do pólen .....	51
Razão pólen/óvulo (P/O) .....	53
Índice meiótico .....	53

Viabilidade polínica via teste colorimétrico.....	56
Citoquímica.....	58
CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
4.3 CAPÍTULO III.....	64
RESUMO.....	64
INTRODUÇÃO.....	64
MATERIAL E MÉTODOS.....	66
Área de estudo.....	66
Caracterização de frutos e sementes.....	67
Análises estatística.....	68
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	68
CONCLUSÕES.....	77
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	82

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O reconhecimento do cerrado brasileiro como savana mais rica do planeta devido sua diversidade biológica, com aproximadamente 11.627 espécies nativas de plantas, dentre as quais 58 espécies são frutíferas (BRASIL, 2000; MORZELLE et al., 2015). Os frutos encontrados em sua grande maioria são utilizados como alimentos e consumidos pelas populações locais (VIEIRA et al., 2006), onde vem despertando pelos pesquisadores o interesse por seus benefícios à saúde.

*Byrsonima cydoniifolia* A.Juss., conhecida como murici, pertence à família Malpighiaceae, encontrada nas mais diversas localidades do cerrado brasileiro, com grande distribuição pelos Estados de Mato Grosso, Tocantins, Roraima, Sergipe, Amazonas, Bahia, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraná e Minas Gerais (MAMEDE, 2010; BELISÁRIO e CONEGLIAN, 2013). E ainda há registros de incidência nos países da Bolívia, Venezuela e República Cooperativa da Guiana (BENEZAR e PESSONI, 2006). Os muricizeiros tem características típicas das plantas de cerrado, sendo arbustivo à sub-lenhoso, de porte médio com galhos tortuosos, altura variando de um a três metros, podendo obter até 6 metros (REGO et al., 2014). Em decorrência das chuvas o florescimento e frutificação pode ocorrer o ano inteiro com florações prolongadas, sendo isso, características comuns em frutíferas tropicais, associando-se em dinâmicas de reprodução com vistas a uma polinização nos lugares em que ocorrem redução na quantidade de polinizadores da espécie (GOMES, 2005).

A espécie em estudo nos últimos anos tem sofrido com a fragmentação florestal, em função da ampliação das fronteiras agrícolas, exploração madeireira, aberturas de estradas, como também os inúmeros incêndios florestais (NEPSDATAD et al., 1999, 2002). A fragmentação de habitats florestais, provocam perdas da biodiversidade, isolamento de grupos populacionais e modificações nos padrões de dispersão e migração das espécies (LAURANCE et al., 2002; QUESADA et al., 2013).

Estudos e análises de fragmentação em habitats florestais podem favorecer a quantificação e distribuição da variação no tempo e no espaço, e ainda modificações na estrutura genética entre e dentro de populações naturais, permitindo uma seleção na adaptabilidade com estratégias delineadas na conservação da variabilidade genética, manejo sustentável e melhoramento genético (ESTOPA, 2003; SAHYUN, 2007). O conhecimento da variação genética entre e dentro de populações, pode permitir suportes na conservação dos recursos genéticos florestais (HAMRICK, 1983). Dessa forma, a biologia molecular se

apresenta como ferramentas valiosas no melhoramento genético, análises da diversidade e estrutura populacional para muitas espécies, onde a mais importante dessas ferramentas possa ser a utilização dos marcadores moleculares em nível de DNA, as quais apontam diferenças simples nas informações genéticas presentes em dois ou mais indivíduos, e, ainda auxiliam na caracterização da variabilidade e estrutura populacional (FAJARDO et al. 1998; STRUSS & PLIESKE 1998; PESTSOVA et al. 2000).

A caracterização molecular com uso dos marcadores microssatélites (SSR), são ferramentas importantes para se utilizar, pois estes apresentam características desejáveis na aplicação de estudos em genética de populações (VIEIRA et al., 2016), apresentando uma herança codominante, altamente polimórficos e multialélicos (BORÉM; CAIXETA, 2016).

Estudos mostram que a biologia reprodutiva das plantas possui uma contribuição na conservação e manejo sustentável das espécies (LENZI et al., 2005). Borém e Miranda (2005) apresentam a análise do comportamento meiótico como importância extrema no melhoramento de plantas, pois a troca de alelos entre as espécies é fornecida pela estimativa da afinidade genética como um indicativo da melhor combinação.

A biometria constitui um importante instrumento em detectar a variação genética de frutos e sementes dentro de populações em uma mesma espécie, como também nas relações da variabilidade com fatores ambientais (CRUZ; REGAZZI, 2012). Esta técnica também é usada em várias espécies perenes e semiperenes com certa frequência, como a cajazeira (SOARES et al., 2008), a laranjeira-doce (NEGREIROS et al., 2008), o capim-elefante (SHIMOYA et al., 2002), cana de açúcar (FERREIRA et al., 2005; SANTOS et al., 2004) e outras mais.

Assim, este estudo teve por objetivo a avaliação da diversidade genética por meio de marcadores moleculares microssatélites, verificação da viabilidade polínica e o comportamento meiótico, bem como a divergência e correlação entre caracteres de frutos e sementes entre indivíduos de muricizeiros em populações nativas, com ocorrência na região leste do estado de Mato Grosso.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Espécie em Estudo**

*Byrsonima cydoniifolia* é uma espécie nativa e florestal em domesticação, pertencente à família Malpighiaceae, distribuída geograficamente em território brasileiro, com ocorrências espontâneas, tendo como maior abundâncias e frequências às regiões Centro-Oeste, Norte e Nordeste brasileira. O gênero *Byrsonima*, ainda possui as espécies: *Byrsonima crispa* Juss.

(murici-da-mata), *Byrsonima lancifolia* Juss. (murici-miúdo), *Byrsonima verbascifolia* (L.) Rich (murici-rasteiro) e *Byrsonima amazonica* Gris (murici-vermelho); conhecidas popularmente como murici, porém, estas apresentam frutos com qualidade inferior e não muito apreciados (CAVALCANTE, 2010; FLORA BRASIL, 2016). O murici possui uso múltiplo (comercialização da fruta ou produção madeireira), este é consumido *in natura* ou processado na forma de sucos, sorvetes, doces, entre outros produtos do gênero alimentício, tornando-se um importante recurso alimentar, diversificando a dieta e aumentando a renda familiar no período de safra da fruta em populações rurais de baixa renda (CARVALHO et al., 2006).

O murici se caracteriza como uma árvore ramificada hermafrodita, com galhos ascendentes e eretos, base lenhosa, crescimento variando em torno de 1 a 6 metros de altura e presença de tronco frequentemente tortuoso. Suas folhas em ambas as faces são coriáceas e pilosas, medindo de 10 a 14 cm de comprimento, classificada como brevidecídua, apresentando queda foliar entre os meses de julho a setembro com brotamento de folhas jovens seguido de pendões florais entre os meses de setembro a outubro. Possui inflorescência terminal, formada por flores com corola de cor amarela ou laranja após a polinização e ainda a presença visível de glândulas produtoras de óleos na região do cálice. A floração ocorre entre os meses de agosto a dezembro em regiões do bioma Cerrado (VIEIRA et al., 2006). Seus frutos podem medir até 2 cm de diâmetro, com drupa globosa, polpa suculenta e adocicada de coloração em amarelo no período da maturação, podendo ter entre uma a três sementes por fruto. Já as sementes podem apresentar diâmetros entre 0,5 a 1,0 cm (PEIXOTO et al., 2011). A frutificação tem ocorrência nos meses de outubro a fevereiro em biomas de Cerrado (VIEIRA et al., 2006).

Não se limita a utilização somente dos frutos de *Byrsonima cydoniifolia*, mas sim de uma totalidade desta planta, sua madeira muito utilizada em construções civis, apresentando uma coloração acetinada em amarela ou avermelhada, podendo ser muito utilizada em marcenaria de luxo. Na área da medicina popular possui grande importância no controle da diarreia, antitérmico, infecções intestinais, afecções de boca e garganta (amigdalite, faringite e gengivite) e hemorróidas. E ainda, adstringente (contendo, de 15 a 20% de tanino), podendo ter a utilização na indústria e curtume (REGO et al., 2014).

Os muricizeiros ainda se distinguem por suas localidades de ocorrências, apresentando diferenças variadas em tamanhos e cores, sendo conhecidos como: murici-amarelo (*Byrsonima cydoniifolia*), murici-vermelho, murici-de-flor-vermelha, murici-branco, murici-de-flor-branca, murici-da-mata, murici-de-chapada, murici-do-campo, murici-da-serra, murici-das-capoeiras, murici-do-brejo, murici-da-praia, dentre outros (SOUZA e LORENZI, 2005).

## 2.2 Diversidade genética populacional

A diversidade genética se refere a toda variação biológica hereditária acumulada durante o processo evolutivo gerada, fundamentalmente por mutação na sequência nucleotídica durante a replicação do DNA. Portanto, a variabilidade genética disponível na população pode ser realizada por meio de estudos de diversidade que poderá auxiliar na identificação de genótipos superiores e distante geneticamente. Essa pode ser determinada por meio de caracterizações morfoagronômicos, fisiológicos, bioquímicos, citogenéticos e moleculares (CAIXETA et al., 2016).

O estudo da diversidade genética em espécies vegetais tem sido realizado através de marcadores moleculares, estes determinam variações em populações nativas e bancos de germoplasma, identificando marcadores e direcionando cruzamentos que auxiliam na descrição de materiais vegetais e cultivares recomendadas (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998).

As técnicas mais utilizadas na atualidade para avaliações da diversidade genética são as contempladas pelos marcadores microsatélites (FASANELLA et al., 2019). Estes marcadores se baseiam em PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), apresentando vantagens sobre os demais marcadores existentes, devido a sua natureza multialélica, um alto grau de polimorfismo, serem codominantes, altamente reproduzíveis, requerem pequenas quantidades de DNA e são transferíveis entre espécies correlacionadas (VARSHNEY et al., 2005; CAIXETA et al., 2016; TAHERI et al., 2018; FASANELLA et al., 2019).

Com a utilização dos marcadores moleculares, é possível uma avaliação de um elevado número de genótipos em um curto espaço de tempo, tendo como vantagens a não influência direta do ambiente, como acontece com marcadores morfológicos. Isso, tem despertado o interesse para a utilização em estudos de diversas espécies, dentre elas as pertencentes ao gênero *Byrsonima* (MELO, 2016).

O estudo da diversidade genética, possui uma grande relevância para o melhoramento de plantas e conservação de muitas espécies. Através desses conhecimentos, torna-se possível a identificação de genótipos contrastantes, com características de interesses, com alta produtividade, resistentes a doenças e ideal para cruzamentos promissores dentro dos programas de melhoramento (BORÉM; CAIXETA, 2016).

## 2.3 Viabilidade polínica e índice meiótico

O processo da viabilidade polínica põe em evidência a reprodução masculina de determinada espécie (SOUZA et al., 2014), realizada através dos corantes químicos e

específicos, onde estes mostram a presença dos componentes celulares nos grãos de pólen (BITENCOURT, 2016). Em grande parte das espécies vegetais com reprodução na forma sexuada, os grão de polens se responsabilizam pelo transporte dos gametas masculino para o feminino (AGOSTINI et al., 2014), com desempenho no processo reprodutivo e produtividade da planta (SOUZA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2014). Onde, o êxito da reprodução está na dependência dos polens viáveis, originados no processo meiótico ocorrido nas anteras (PATEL et al., 2014).

A regulação meiótica pode gerar gametas viáveis, com alto percentual de grãos de polens viáveis esperado, apresentando como resultado um grande número de células tétrades normais (TECHIO et al., 2005). Já as anormalidades ocorridas no processo da meiose podem levar à formação de gametas com um número de cromossomos não balanceado o que geralmente o torna inviável (NASCIMENTO et al., 2014), ocasionando assim, a infertilidade da planta (PAGLIARINI, 2000).

Pesquisas sobre a estabilidade da base meiótica e viabilidade nos grãos de pólen podem permitir a verificação no potencial de cruzamento da espécie, onde o índice meiótico (IM), avalia-se a estabilidade meiótica dos genótipos, através dos produtos pós-meióticos: tétrades, tríades, díades, mônades e políades (LOVE, 1951). Já com o estudo da viabilidade polínica, que por sua vez, possui grande relevância nos programas de melhoramento, torna-se possível ter correlações com anormalidades meióticas, selecionando materiais genéticos e realizando inferências nos cruzamentos com eficiências (BIZÃO et al., 2016).

#### **2.4 Caracterização biométrica de frutos e sementes**

O fruto dos muricizeiros é carnoso, drupóide, com forma globosa ou oblonga, ovário tricarpelado com um óvulo por carpelo. Seu peso e tamanho pode apresentar pronunciadas variações, onde podemos encontrar frutos com medidas de peso entre 1,0 e 6,0 g e diâmetro de 0,7 e 2,2 cm. Essas particularidades possui componentes genéticos fortes e independentes do número de frutos desenvolvidos por ráculo (LOURENÇO, 2008).

Dessa forma, a biometria dos frutos e sementes dos muricizeiros constitui instrumento importantíssimo na detecção da variabilidade genética dentro de populações de uma mesma espécie (CRUZ e REGAZZI, 2012). Essa, é utilizada em diversas espécies perenes e semiperenes, como: a cana de açúcar (FERREIRA et al., 2005; SANTOS et al., 2004), o capim-elefante (SHIMOYA et al., 2002), a laranjeira-doce (NEGREIROS et al., 2008), a cajazeira (SOARES et al., 2008), e outras, tais como os aspectos entre a variação e as condições ambientais, os quais tem importância nos programas de melhoramentos genéticos.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGOSTINI, K.; LOPES, A. V.; MACHADO, I. C. Recursos florais. In: RECH, A. R.; OLIVEIRA, P. E. **Biologia da polinização**. Rio de Janeiro: Projeto Cultural, p.517, 2014.
- BELISÁRIO, C. M.; CONEGLIAN, R. C. C. Qualidade de frutos de murici (*Byrsonima crassifolia*, Malpighiaceae) armazenados sob refrigeração. **Global Science and Technology**, v. 06, n. 2, p. 95-101, 2013.
- BENEZAR, R. M. C.; PESSONI, L. A. Biologia floral e sistema reprodutivo de *Byrsonima* em uma savana amazônica. **Acta Amazônia**, 2006.
- BITENCOURT, C. **Citogenética e palinologia de *Schinus terebinthifolia* Raddi (Anacardiaceae)**. 2016.
- BIZÃO, N.; MURAKAMI, D. M.; BARBOSA, C. H.; CHAVES, L.J.; TELLES, M. P. C. Avaliação do desenvolvimento do muricizeiro em banco de germoplasma da universidade federal de Mato Grosso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 34., 2016, São Luis. [**Anais Eletrônicos**]. São Luis: SBF, 2016.
- BORÉM, A.; CAIXETA, E. **Marcadores moleculares**. Viçosa: Editora UFV, 2016. 385p.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **O bioma cerrado**. 2000. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>>. Acesso em: 10 de outubro de 2023.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. Seleção recorrente. **Melhoramento de plantas**, v. 4, p. 283-303, 2005.
- CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B.; BRITO, G. G.; SAKIYAMA, N. S. Tipos de marcadores moleculares. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. (eds). **Marcadores moleculares**. Viçosa: UFV, p. 9-93, 2016.
- CARVALHO, J. E. U.; NASCIMENTO, W. M. O.; MÜLLER, C. H. **Características físicas e de germinação de sementes de espécies frutíferas nativas da Amazônia**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, p.27, 2006. (Documentos, 261).
- CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis na Amazônia**. 7.ed. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, p. 282, 2010.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. v. 1, p.514, 4. ed. Viçosa: UFV, 2012.
- ESTOPA, R. A. **Diversidade genética em populações naturais de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC) Mac Leish)**. Lavras. Universidade Federal de Lavras. 2003. 43f. (Monografia em Ciências Florestais).
- FAJARDO, MARIO, E.; TAM, S. Rapid vapor deposition of millimeters thick optically transparent parahydrogen solids for matrix isolation spectroscopy. **The Journal of chemical physics**, v. 108, n. 10, p. 4237-4241, 1998.

FASANELLA, M.; SOUTO, C. P.; PREMOLI, A. C. Preliminary cross-genera transferability of SSRs among threatened South American Cupressaceae. **New Zealand Journal of Botany**, v. 58, n. 2, p. 153-166, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/0028825X.2019.1685552>

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise**. 3ª edição. Embrapa, Brasília, 1998.

FERREIRA, A.; BARBOSA, M. H. P.; CRUZ, C. D.; HOFFMANN, H. P.; VIEIRA, M. A. S.; BASSINELLO, A. I.; SILVA, M. F. Repetibilidade e número de colheitas para seleção de clones de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, v. 40, n. 8, p. 761-767, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2005000800005>

FLORA BRASIL. **Angiospermas na flora do Brasil 2020 em construção**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico, 2016.

GOMES, R. P. **Fruticultura Brasileira**. 11ª edição, p. 107-108, São Paulo. 2005.

HAMRICK, J. L. The distribution of genetic variation within and among natural plant population. *In* Genetics and conservation (C.M. Schone-Wald-Cox, S.H. Chambers, B. MacByde & L. Thomas, eds.). **Benjamin Cummings Publishing Company**, Menlo Park, 1: 335-348, 1983.

LAURANCE, W. F.; LOVEJOY, T. E.; VASCONCELOS, H. E.; BRUNA, E. M.; DIDHAN, R. K.; STOUFFER, F. C.; GASCON, C.; BIERRAGAARD, R. O.; LAWRENCE, S. G.; SAMPAIO, E. E. Ecosystem decay of amazonian Forest fragments: a 22-year investigation. **Conservation Biology**. 16: 605-618, 2002.

LENZI, M.; ORTH, A. I.; GUERRA, T. M. Ecologia da polinização de *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae), em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, n. 28, v. 3, 2005. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-84042005000300008>

LOURENÇO, I. P. **Potencial de utilização de frutos de genótipos de Muricizeiros cultivados no litoral do Ceará**. 2008.

LOVE, R. M. Varietal differences in meiotic chromosomes behavior of Brazilian wheats. **Agronomy Journal**, v.43, p.72-76. 1951.

MAMEDE, M. C. H. **Byrsonima** in lista de Espécies da Flora do Brasil. 2010.

MELO, K. G. P. **Caracterização Molecular e Citogenética de Acessos de *Manihot* Muell. Cultivados no Semiárido Brasileiro**. Petrolina: Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, p. 46, 2016.

MORZELLE, M. C.; BACHIEGA, P.; SOUZA, E. C.; VILAS BOAS, E. V. B.; LAMOUNIER, M. L. Caracterização química e física de frutos de curriola, gabioba e murici provenientes do cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 1, p.96- 103, 2015.

NASCIMENTO, L. S.; BENEVENUTI, A. S.; LEITE, D. M.; SILVA, M. D. D.; MIRANDA, D.; MELLO, V.; DAHMER, N.; KARSBURG, I. V. Estimativa da viabilidade polínica e índice meiótico de *Delonix regia*. **Estudos**, Goiânia, v.41, n.1, p.83-88, 2014.

- NEGREIROS, J. R.; SARAIVA, L. L.; OLIVEIRA, T. K.; ÁLVARES, V. S.; RONCATTO, G. Estimativas de repetibilidade de caracteres de produção em laranjeiras-doces no Acre. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 12, p. 1763-1768, 2008.
- NEPSTAD, D., A.; MOREIRA, A. A. A. Flames in the Rainforest: Origins, Impacts and Alternatives to Amazon Fire. **Pilot Program for the Conservation of the Rainforests of Brazil**, World Bank, p. 140, 1999.
- NEPSTAD, D.; MCGRATH, D.; ALENCAR, A.; BARROS, A.; CARVALHO, G.; SANTILLI, M.; VERA DIAS, C. Frontier Governance in Amazonia. **Science** 295: 629-630, 2002.
- OLIVEIRA, P. E.; MARUYAMA, P. K. Sistemas reprodutivos. In: RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I. C. **Biologia da polinização**. Rio de Janeiro: Projeto Cultural, p. 517, 2014.
- PAGLIARINI, M. S. Meiotic behavior of economically important plant species: The relationship between fertility and male sterility. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.23, n.4, p.997-1002, 2000.
- PATEL, R. G.; MANKAD, A. U. In vitro pollen germination: a review. **International Journal of Scientific Research**. v.3, n.5, p.304-307, 2014.
- PEIXOTO, K. S.; ALMEIRA, D. S.; CAPUZZO, J. P.; ELIAS, M. A. S.; MELO, M. S.; MORAIS, R. J.; RIBEIRO, M. N. Sistema de Polinização e Reprodução do Muricizeiro *Byrsonima crassa* (Malpighiaceae). **Interdisciplinar Revistas Eletrônica da Univar**, v. 6, p. 17-21, 2011.
- PESTSOVA, E.; GANAL, M. W.; RÖDER, M. S. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. **Genome**, v. 43, n. 4, p. 689-697, 2000.
- QUESADA, M.; HERRERÍAS-DIEGO, Y.; LOBO, J. A.; SÁNCHEZ-MONTOYA, G.; ROSAS, F.; AGUILAR, R. Long-term effects of habitat fragmentation on mating patterns and gene flow of a tropical dry forest tree, *Ceiba aesculifolia* (Malvaceae: Bombacoideae). **American Journal of Botany**, v. 6, n. 100, p. 1095–1101, 2013.
- RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; RAMOS, M. C.; SILVA, O.; MENDES, F. N.; RIBEIRO, E. K. M. D. **Polinizadores do murici em uma área nativa: Uso sustentável e restauração da diversidade dos polinizadores na agricultura e nos ecossistemas relacionados**: Rio de Janeiro, 2014.
- SAHYUN, S. A. **Variabilidade genética de populações de espinheira santa (*Maytenus aquifolium*) por marcadores moleculares**. Londrina. Universidade Estadual de Londrina. 2007. 89p. Dissertação de Mestrado em Genética.
- SANTOS, M. S. M. dos et al. Repetibilidade de características agroindustriais em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 4, p. 301-306, 2004.
- SHIMOYA, A. et al. Repetibilidade de características forrageiras do capim-elefante. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 2, p. 227-234, 2002.

SOARES, E. B. et al. Repetibilidade e correlações entre caracteres morfo-agronômicos de cajazeira. **Ciência e agrotecnologia**, v. 32, n. 6, p. 1851-1857, 2008.

SOUZA, M. D. A.; SILVEIRA, G. F.; SILVA, M. A. S.; KARSBURG, I. V. Estimativa da viabilidade polínica em indivíduos de *Tabebuia impetiginosa* e *Tabebuia crysotricha* (Mart. ex. DC.) Standl. (Bignoniaceae) através de métodos citoquímicos. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.10, n.18, p.3864, 2014.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em AGP II. Nova Odessa-SP: Instituto Plantarum, p. 640, 2005.

STRUSS, D.; PLIESKE, J1. The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley populations. **Theoretical and Applied genetics**, v. 97, n. 1, p. 308-315, 1998.

TAHERI, S.; ABDULLAH, T. L.; YUSOP, M. R.; HANAFI, M. M.; SAHEBI, M.; AZIZI, P.; SHAMSHIRI, R. R. Mining and development of novel SSR markers using Next Generation Sequencing (NGS) data in plants. **Molecules**, v. 23, n. 1, 399, 2018. DOI: 10.3390/molecules23020399

TECHIO, V. H.; DAVIDE, L. C.; PEREIRA, A. V. Genomic analysis in *Pennisetum purpurum* X *P. Glacumhybrids*. **Caryologia**, Firenze, v.58, p.28-33, 2005.

VARSHNEY, R. K.; GRANER, A.; SORRELLS, M. E. Genic microsatellite makers in plants: features and applications. **Trends in Biotechnology**, v. 23, n. 1, p. 48-55, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2004.11.005>

VIEIRA, R. F.; AGOSTINI, C. T.; SILVA, D. B.; FERREIRA, F. R.; SANO, S. M. **Frutas nativas da região centro-oeste**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006.

VIEIRA, M. L. C.; SANTINI, L.; DINIZ, A. L.; MUNHOZ, C. D. F. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. **Genetics and molecular biology**, v. 39, p. 312-328, 2016.

## 4. CAPÍTULOS

### 4.1 CAPÍTULO I

#### **DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Byrsonima cydoniifolia* A. JUSS. POR MEIO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES**

##### **RESUMO**

O estado de Mato Grosso possui grande parte de seu território com o bioma cerrado. Distribuído nessas áreas, está *Byrsonima cydoniifolia*, uma espécie arbórea destacando pelo alto potencial econômico, fonte alimentícia, medicinal, ornamental, indicada para recuperação de áreas degradadas, adaptativa a outros biomas. Apesar de ser muito estudada no cerrado, não há informações a respeito da diversidade genética. Portanto, o presente estudo objetivou caracterizar a diversidade genética de quatro populações de *B. cydoniifolia* no estado de Mato Grosso, nos municípios de Barra do Garças, Araguaiana-I, Araguaiana-II e Cocalinho, usando marcadores moleculares SSR. Foram amostrados 128 indivíduos de *B. cydoniifolia* distribuídos em quatro populações. Realizou a caracterização molecular com doze *primers* SSR (*Simple Sequence Repeat*), os dados de diversidade e estrutura genética foram obtidos através dos programas Gene Marker, Power Marker, Structure, GenAlex e Mega. Foram encontrados 132 alelos com média de onze alelos por *locus*. O PIC médio foi de 0,667. *He* foi maior que *Ho* para todos os *loci* e populações analisadas, indicando maior proporção de homozigotos do que de heterozigotos. O valor do índice de fixação médio por *primers* foi 0,639 e 0,615 por população, demonstrando que as populações apresentam endogamia. Foram identificados 117 alelos raros, 43 alelos exclusivos e 26 alelos raros mais exclusivos nas populações, a população de Araguaiana-II, apresentou maior número de alelos raros. Análise de variância mostrou que o maior componente de variação é intrapopulacional. O valor do  $F_{ST}$  (0,126) revela que há divergência genética entre as populações. As populações de Barra do Garças e Cocalinho foram mais divergentes entre as quatro analisadas. Os resultados apontaram uma diversidade genética em *B. cydoniifolia*, onde sua conservação e sustentabilidade, é importantíssimo para programas de melhoramento genético.

**Palavras-chave:** Cerrado; Murici; Variação; Caracterização molecular; Heterozigosidade.

##### **INTRODUÇÃO**

No bioma do cerrado brasileiro encontramos inúmeras espécies da família Malpighiaceae, destacando-se pelo seu alto potencial econômico, como fonte alimentícia, medicinal e ornamental, e, adaptáveis a outros biomas (AMÂNCIO et al., 2020).

Neste bioma, com grande significância destaca-se *Byrsonima cydoniifolia* A. JUSS popularmente conhecida como murici, sendo uma árvore de porte pequeno, com ampla utilidade na produção de alimentos, madeira e uso na medicina popular. Apesar de sua importância sócio-econômica, ainda são poucos os estudos e registros existentes nas literaturas sobre as espécies de murici (MENEZES FILHO, 2021). Diante disso, a análise da diversidade genética de *B. cydoniifolia* torna-se indispensável para a compreensão de sua variabilidade (GURGEL, 2016).

Além disso, para a espécie em estudo há uma escassez de informações nas literaturas voltadas para pesquisa da diversidade genética com populações nativas no uso de marcadores moleculares. Esse tipo de análise é importante, pois pode revelar potenciais adaptativos e evolutivos das populações (BERNARDES, 2018). Nos programas de melhoramento genético e conservação das espécies, torna-se indispensável a compreensão dos padrões da diversidade genética de alelos presentes nos indivíduos, bem como suas organizações entre e dentro de populações no percurso de suas distribuições geográficas (VAZ, 2021).

Marcadores moleculares: RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) baseados em PCRs se distinguem por seus princípios metodológicos, dentre estes, os marcadores microssatélites SSR (*Simple Sequence Repeat*), altamente polimórficos e utilizados em pesquisas com populações naturais, esses agregam conhecimento sobre distribuições das variações genéticas dentro e entre populações naturais, sendo um fator essencial e muito eficiente na adesão de estratégias para preservação de germoplasma *in situ* e *ex situ* (GURGEL, 2016).

Para as análises da estrutura populacional, fluxo gênico, vínculo nas variações fenotípicas e genotípicas através de mapeamentos físicos e genéticos, os marcadores microssatélites possui uma eficiência no estudo da diversidade genética, genética populacional e estudos evolutivos (KALIA et al., 2011). Esses marcadores tem proporcionado crescentes bancos de dados nas pesquisas genéticas, nos impactos provocados em populações modestas em extensão e nas distribuições da variação genética neutra (BERNARDES et al., 2021).

Estudos com o murici vem sendo realizado nos últimos anos por alguns autores. Gurgel (2016), mostra avanços no conhecimento e ações de pré-melhoramento e Bernardes et al. (2014, 2018 e 2021), realizaram estudos sobre a variabilidade genética e conservação da espécie em bancos de germoplasma, como também isolamento e caracterização de locos microssatélites em *B. cydoniifolia* e amplificação cruzada em *B. crassifolia*. Diante disso, o estudo teve como objetivo caracterizar a diversidade genética de quatro populações de *B. cydoniifolia* no estado de Mato Grosso, dentre os municípios de Barra do Garças, Araguaiana-I, Araguaiana-II e Cocalinho por meio de marcadores moleculares SSR.

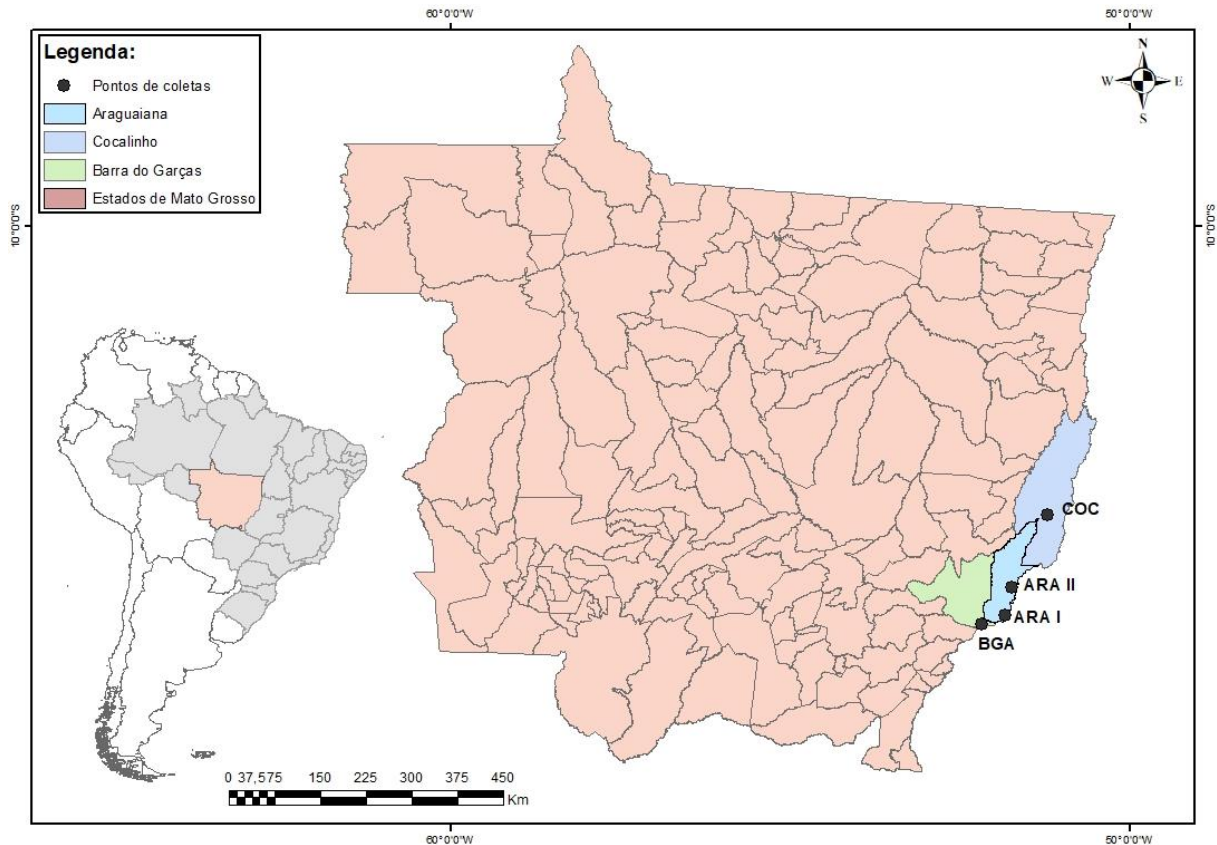
## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Área de estudo e amostragem**

Coletou-se amostras de quatro áreas de ocorrência natural de *B. cydoniifolia*, localizadas na região leste do Estado de Mato Grosso (Tabela 1).

**Tabela 1.** Localização geográfica das quatro populações amostradas na região leste do estado de Mato Grosso, Brasil.

Indivíduos	Populações	Sigla	Latitude	Longitude
BGA01 a BGA32	Barra do Garças	BGA	52°39' 27"W	15°42' 22"S
ARA33 a ARA64	Araguaiana-I	ARA-I	51°18' 20"W	15°28' 54"S
ARA65 a ARA96	Araguaiana-II	ARA-II	51°21' 44"W	15°12' 35"S
COC97 a COC128	Cocalinho	COC	51°05' 58"W	14°36' 44"S



**Figura 1.** Pontos geográficos dos municípios amostrados no estado de Mato Grosso, Brasil.

Conforme classificação de Köppen, o clima dos municípios amostrados no presente estudo são do tipo AW (úmido e quente) com estações definidas, verão chuvoso (outubro a março) e inverno seco (abril a setembro). A média anual de precipitação nessa região é de 1.578,9 mm e temperatura média anual de 25,6 °C (BARTIMACHI et al., 2008). Esses municípios estão localizados em regiões sedimentares, com serras e chapadas pertencentes ao planalto do Alto Xingú-Araguaia, planalto do médio rio das Mortes, Serra das Gerais, Serra do Roncador e a Serra Azul (ALVES et al., 2011). A vegetação existente nestes municípios são os cerrados (savana arborizada), com amostras de Campo Cerrado (savana parque), fragmentos de Cerradões (savana florestada), presença de matas em galeria, florestas aluviais e veredas (Floresta estacional semidecidual aluvial) (ALVES et al., 2011).

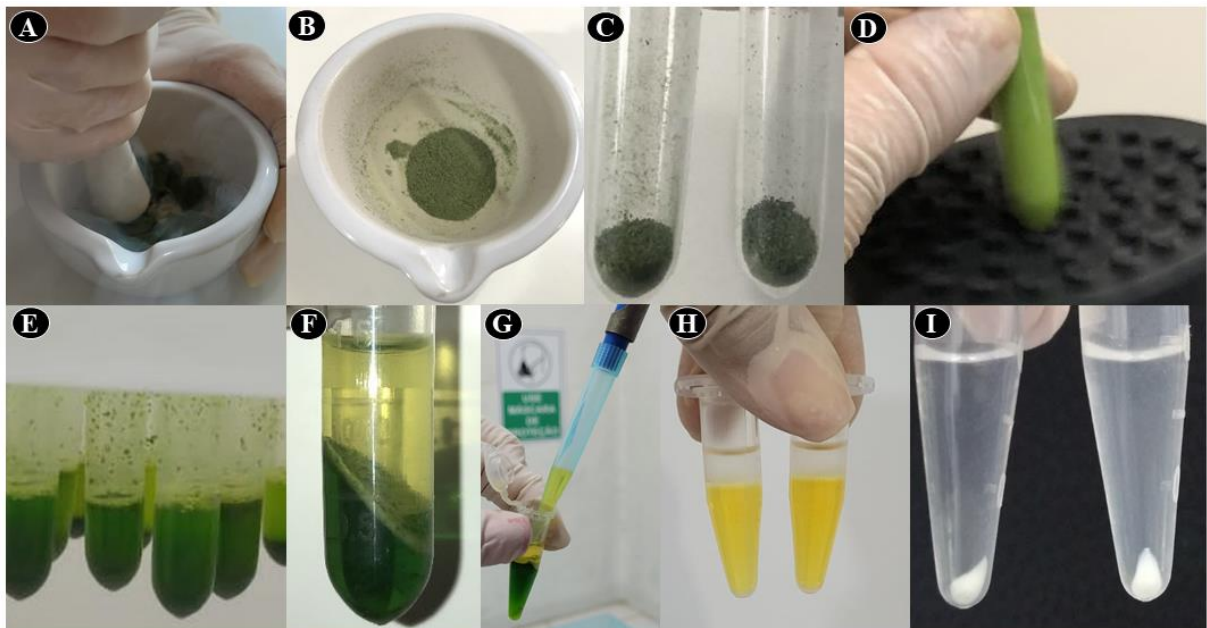
Em cada população foram amostrados 32 indivíduos, onde foram coletados entre oito a dez folíolos jovens em cada planta para extração do DNA. As folhas coletadas foram desidratadas em sílica gel e acondicionado em sacos plásticos até uso posterior. Para cada população também foram coletadas duas duplicatas de material botânico da espécie para preparação de exsicatas que foram depositadas no Herbário da Amazônia Meridional (HERBAM), pertencente a Universidade Estadual de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), localizado no Município de Alta Floresta, MT, sob os números de tomo: 26690, 26691, 26692 e 26693.

As folhas coletadas, identificadas e armazenadas em sacos plásticos de fecho hermético juntamente com a sílica gel em campo, posteriormente, foram retiradas da sílica e acondicionadas em envelopes de alumínio devidamente identificados e armazenadas em freezer à aproximadamente  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , no Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular de Plantas (GenBioMol), para posterior extração de DNA.

### **Extração do DNA**

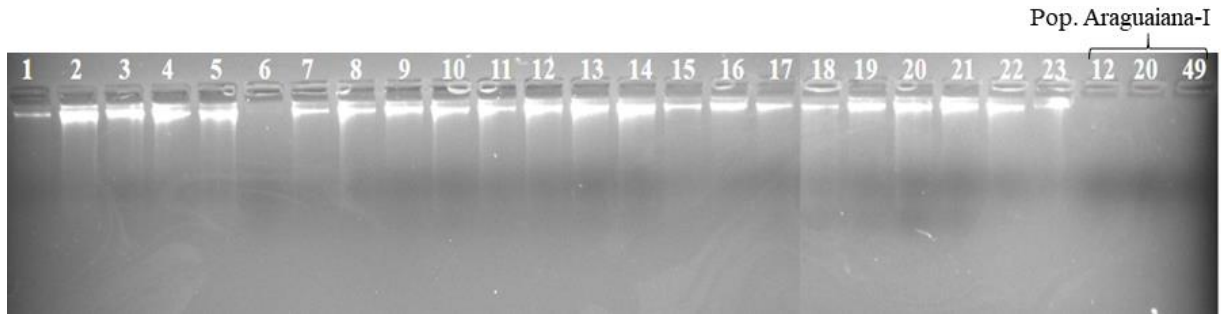
A extração do DNA total foi em média de 100 mg do produto foliar, conforme método Brometo de Cetil Trimetil Amônio (CTAB) protocolo escrito por Doyle e Doyle (1990) com as seguintes concentrações: CTAB de 5%, polivinilpirolidona (PVP) de 2%, levado em banho maria a  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$  até a diluição do PVP. Em seguida, acrescentou-se em ( $\mu\text{L}$ )  $\beta$ -mercaptoetanol e Proteinase K de acordo com número de indivíduos em extração no tampão em capela de exaustão. O material foliar foi triturado com nitrogênio líquido em auxílio de almofariz e pistilo de porcelana (Figura 2A, 2B). O pó resultante transferiu-se para duplicata de microtubos de 2 mL (Figura 2C), onde foi adicionado 800  $\mu\text{L}$  de tampão de extração (100 mM Tris-HCl, pH 8,0; 1,4 M NaCl; 20 mM EDTA; 5% CTAB; 2% PVP e 1,8% de  $\beta$ -mercaptoetanol). Após agitação de um minuto em vórtex, os microtubos foram incubados a  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 60 minutos no banho maria, agitando-os a cada 10 minutos (Figura 2D, 2E). Em seguida os mesmos foram centrifugados a 10.000 rpm por 10 minutos, transferindo-se o sobrenadante para novos microtubos de 1,5mL à temperatura ambiente (Figura 2F, 2G). Após isso, adicionou-se 700  $\mu\text{L}$  de clorofórmio: álcool isoamílico 24:1 (v:v) e subsequente agitação em vórtex e centrifugação a 10.000 rpm por 10 minutos (Figura 2H). O sobrenadante foi transferido novamente para novos microtubos de 1,5 mL ao qual foi adicionado isopropanol gelado ao sobrenadante (+ ou - 500  $\mu\text{L}$ ), invertendo as amostras para homogeneização. Em seguida acrescentou-se 1/3 do volume do sobrenadante de acetato de amônio 7,5M (1/3 de 500  $\mu\text{L}$  = 167  $\mu\text{L}$ ). Os microtubos foram armazenados por três horas em freezer a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  para precipitação do DNA. Após esse momento,

os microtubos foram centrifugados a 10.000 rpm por 10 minutos e descartado o sobrenadante. Na sequência o *Pellet* foi lavado por duas vezes com 500  $\mu\text{L}$  de etanol a 70% e uma vez com 500  $\mu\text{L}$  de etanol a 95%, centrifugando as amostras a cada lavagem a 10.000 rpm por 3 minutos e seco à temperatura ambiente (Figura 2I). O precipitado foi então ressuspendido em 40  $\mu\text{L}$  de TE 0,1 mM (10 mM Tris-HCl; 1 mM EDTA, pH 8,0) contendo RNase na concentração de 40  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  e incubados em banho-maria a 37 °C por aproximadamente 30 minutos. Posteriormente, os microtubos foram armazenados em geladeira a 4 °C por 24 h e depois em freezer (-20 °C).



**Figura 1.** Extração de DNA total de tecido foliar de *Byrsonima cydoniifolia*. Quebra mecânica do tecido foliar com nitrogênio líquido (A); pó resultante da quebra mecânica (B e C); agitação no vórtex (D); retirada do banho maria (E); após o processo de centrifugação separação das fases (F); retirada da fase aquosa (sobrenadante) dos constituintes celulares após inserção do tampão e centrifugação (G); separação das fases após lavagem seguida de centrifugação (H); *Pellet* (I).

A qualidade e a concentração do DNA foi analisado no microespectrofotômetro NANO-300 e por eletroforese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) e por comparação à três indivíduos (12, 20 e 49) da população de Araguaiana-I (Figura 3). A partir da quantificação realizou-se a diluição das amostras de DNA em água destilada autoclavada para a concentração de 100  $\text{ng}/\mu\text{L}$  para uso nas amplificações via Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).



**Figura 2.** Quantificação do DNA total de vinte e três indivíduos de *Byrsonima cydoniifolia* da população de Araguaiana-II, por meio de eletroforese utilizando gel de agarose 1%. Comparação com três indivíduos (12, 20 e 49) da Pop. Araguaiana-I.

### Caracterização molecular e amplificação via PCR

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular de Plantas (GenBioMol) do CEPTAM (Centro de Tecnologia e Pesquisa da Amazônia Meridional) na Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado, Campus Universitário de Alta Floresta, MT. Na análise da divergência genética empregou-se 12 *primers* SSR (*Simple Sequence Repeat*), (BCY01, BCY02, BCY05, BCY06, BCY07, BCY08, BCY09, BCY10, BCY11, BCY12, BCY14 e BCY16), desenvolvidos por Bernardes et al. (2014).

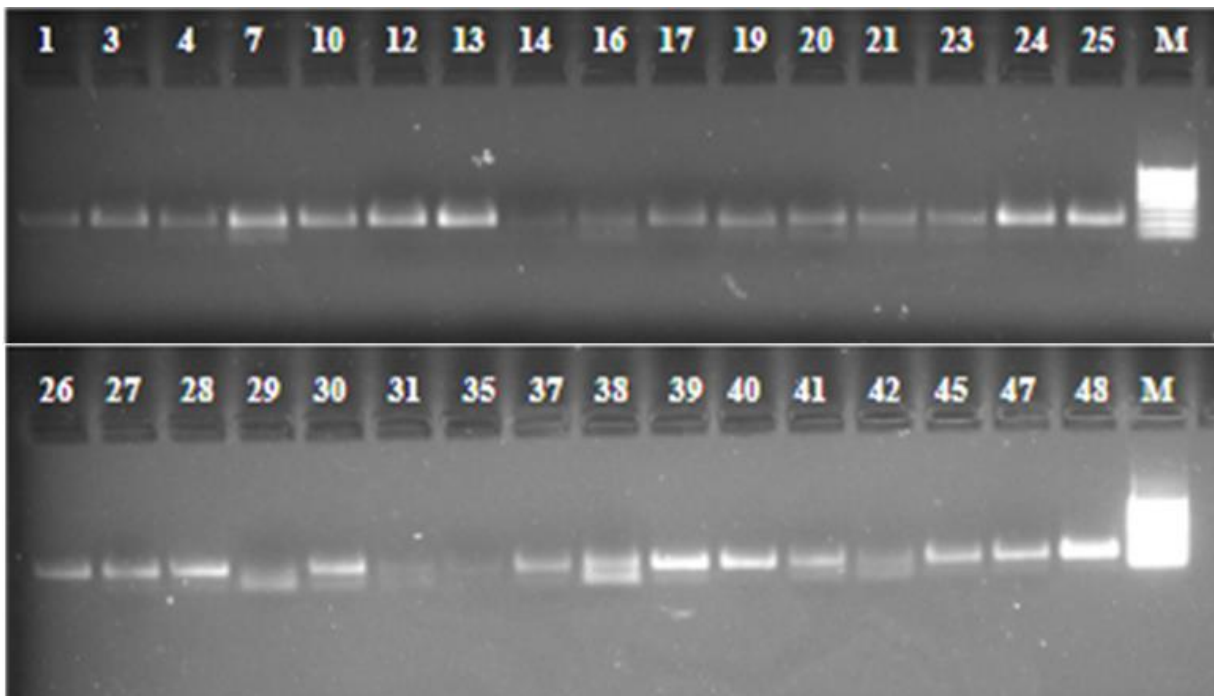
Para as amplificações com as reações, utilizou-se os 12 *primers* microssatélites, adicionando as caudas FAM (azul), VIC (verde) e NED (amarelo) separadas na reação conforme (Tabela 2). Para as PCRs foram utilizadas reações em um volume total de 10  $\mu$ L contendo 1  $\mu$ L de Buffer [0,05% (w/v) azul de bromofenol, 40% (w/v) sacarose, 0,1 M EDTA pH 8,0, 0,5% (w/v) sodium lauryl sulfate (SDS)]; 0,8  $\mu$ L de dNTPs (2,5 mM); 0,13  $\mu$ L e 0,25  $\mu$ L para cada *primer* [forward e reverse (10  $\mu$ M), respectivamente]; 0,2  $\mu$ L de Taq DNA Polimerase (5 U); 0,25  $\mu$ L da marcação FAM, VIC e NED (1  $\mu$ M); 3  $\mu$ L DNA (100 ng/ $\mu$ L), e água ultrapura Milli-Q<sup>®</sup> até completar o volume total.

**Tabela 2.** *Primers* microssatélites marcados com fluorocromos (FAM, VIC, NED) e a amplitude alélica utilizados neste estudo.

Primer	Amplitude Alélica (pb)	Primer	Amplitude alélica (pb)	Primer	Amplitude alélica pb)
BCY06	169 – 177	BCY14	170 – 200	BCY12	196 – 202
BCY02	149 – 175	BCY10	169 – 189	BCY07	180 – 200
BCY08	151 – 167	BCY11	135 – 189	BCY09	175 – 221
BCY16	150 – 175	BCY01	160 - 192	BCY05	177 – 215
<b>FAM</b>		<b>VIC</b>		<b>NED</b>	

Em termociclador Eppendorf foram processadas as amplificações nas condições: 94°C

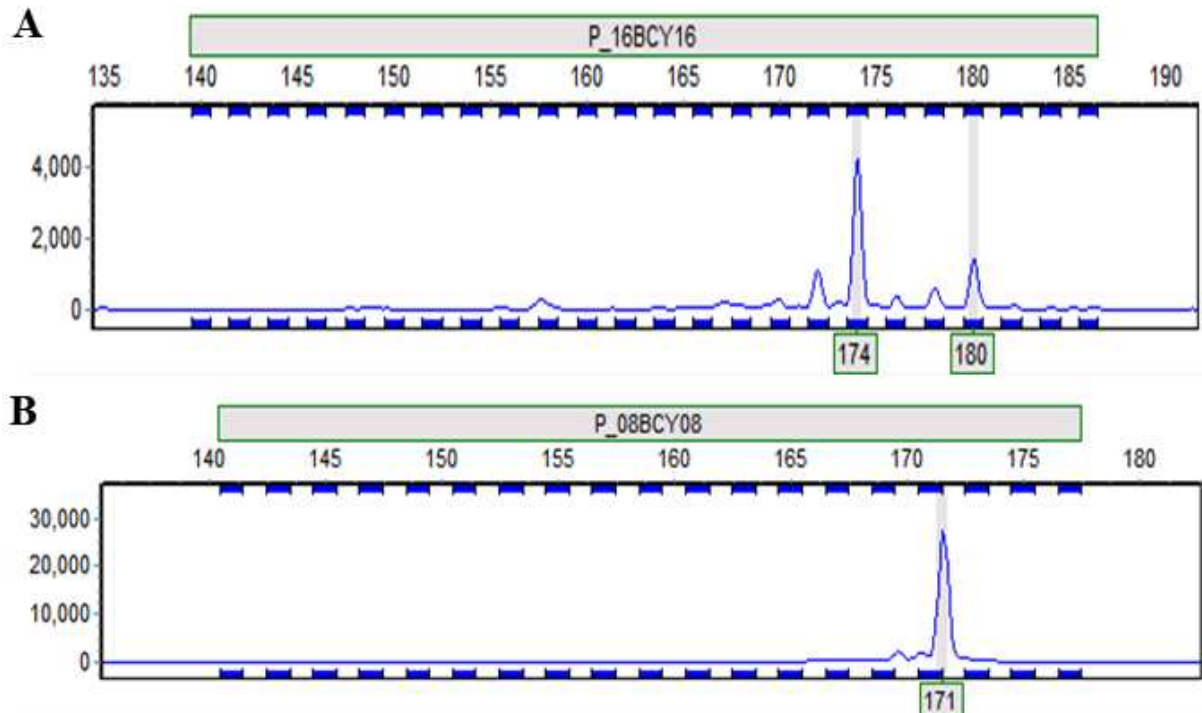
por 5 minutos para desnaturação inicial; 94°C por 30 segundos para 30 ciclos seguidos de desnaturação; temperatura de anelamento de 58°C por 45 segundos e 72°C por 45 segundos e oito ciclos a 94°C por 30 segundos, 53°C por 45 segundos, 72 °C por 45 segundos, e uma extensão final de 72°C por 10 minutos. Os materiais de ampliações foram colocados a eletroforese no gel de agarose a 1% (Figura 4), com tampão TBE 10X, voltagem constante de 80V por 40 minutos e visualizados sobre transiluminador de luz ultravioleta L-PIX Image (Loccus Biotecnologia).



**Figura 3.** Resultado da amplificação via PCR, utilizando o *primer* microssatélite BCY07, submetida à eletroforese em gel de agarose 1%, com amostras de 32 indivíduos da população de Araguaiana-II de *Byrsonima cydoniifolia*. Marcador de DNA ladder de 100 bp/500µL.

Com o término das ampliações das amostras, estas foram enviadas para o Centro de Pesquisa René Rachou, na Plataforma de Sequenciamento de DNA capilar - RPT01E da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), em Belo Horizonte, Minas Gerais, para a realização da análise de fragmentos microssatélites (genotipagem). A detecção automatizada dos microssatélites foi possível devido à presença dos fluorocromos ligados à extremidade 5' dos *primers* forward. A genotipagem foi realizada através da estimativa do tamanho dos alelos amplificados para cada microssatélite, utilizando como base o tamanho conhecido dos picos do padrão marcado com o fluorocromo GeneScan™ 500 LIZ™.

Após a eletroforese capilar, os arquivos gerados com os picos de eletroferogramas, foram observados e avaliados através do programa computacional GeneMarker v.2.6.3 (Demo), sendo possível fazer a distinção de indivíduos homocigotos e heterocigotos (Figura 5).



**Figura 5.** Picos de fluorescência encontrados nos indivíduos genotipados de *Byrsonima cydoniifolia* e detecção do tamanho dos fragmentos amplificados. *Primer* BCY16 marcado com a fluorescência FAM (azul), heterozigoto (A); *primer* BCY08 marcado com a fluorescência FAM (azul), homozigoto (B).

### Análise dos dados

Ocorreu-se em duas etapas as análises da diversidade genética: primeiro com o total de indivíduos e independente da população e posteriormente em nível populacional, considerando os quatro locais amostrados. Utilizou-se o programa PowerMarker v.3.25 para avaliar a diversidade genética (LIU; MUSE, 2005) estimando-se as frequências alélicas, número de alelos por *primer* ( $N_a$ ), conteúdo da informação polimórfica (PIC) e heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) e observada ( $H_o$ ) no Equilíbrio de Hardy-Weinberg, reconhecendo que os cruzamentos ocorrem aleatoriamente não havendo endogamia, seleção, migração, mutação ou deriva genética (KAGEYAMA et al., 2003).

Na determinação da presença de alelos raros (AR) e alelos exclusivos (AE) foi utilizado o critério proposto por Cruz et al. (2011) onde, alelos raros considerou-se aqueles que expressaram uma frequência menor de 0,05% em cada população e o número de alelos exclusivos contando os alelos presentes em apenas uma das populações (TIAGO et al., 2019).

A matriz de distância genética de Nei (1983) foi determinada com as quatro populações amostradas e posteriormente importada para o programa Mega 6.5 (KUMAR et al., 2004) para a confecção do dendrograma através do método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Average*).

Para a análise da estrutura de populações utilizou-se o programa Structure 2.3.4 (PRITCHARD et al., 2000), na inferência e composição do número de grupos (K). Para tanto, foram feitas 20 simulações independentes para cada número K (K com amplitude de 1 a 7, sendo considerado um número de prováveis populações), com 500.000 interações de MCMC (Monte Carlo via Cadeias de Markov) após descarte inicial (burn-in) de 200.000, inserindo modelos ancestrais com misturas correlacionadas com frequências alélicas. O possível número estimado de agrupamentos foi em relação ao proposto pelos métodos descritos por Pritchard et al. (2000) e Evanno et al. (2005) usando arquivos de saída de Structure Harvest (EARL; VONHOLDT, 2012) determinado pelo  $\Delta K$ .

A análise de variância molecular (AMOVA) e coordenadas principais (PCoA) foram efetuadas com auxílio do Software GenAlEx 6.501 (PEAKALL; SMOUSE, 2012).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 12 *primers* microssatélites utilizados para o desenvolvimento do estudo com os 128 indivíduos de *B. cydoniifolia*, foram polimórficos, amplificando um total de 132 alelos. O número de alelos por *primer* variou de cinco (BCY08) à vinte (BCY09), estimando uma média de 11 alelos por *primer* (Tabela 3), isso mostra que a utilização dos *primers* no presente estudo foram capazes de detectar com segurança polimorfismo entre indivíduos de *B. cydoniifolia*.

O conteúdo de informação polimórfica (PIC), para cada *primer* variou de 0,397 (BCY08) à 0,878 (BCY12), com média de 0,667. Dos 12 *primers* utilizados na presente pesquisa, onze foram muito informativos e apenas um mediantemente informativos (Tabela 3). Segundo Botstein et al. (1980), quando o conteúdo de polimorfismo se apresenta entre 0,25 a 0,50 considera-se mediantemente informativo e acima de 0,50 muito informativo. O alto nível de polimorfismo detectado na espécie, através dos *primers* microssatélites, pode estar relacionado a altas taxas de mutações ocorridas por eventos de inserção ou exclusão durante a replicação do DNA (CARNEIRO et al., 2016). Bernardes et al. (2021) trabalhando com várias espécies do gênero *Byrsonima* (*intermedia*, *verbascifolia*, *laxiflora*, *subterranea*, *umbellata*, *linearifolia* e *viminifolia*), com uso na técnica da eletroforese capilar, encontraram valores semelhantes ao da presente pesquisa. López-Guzmán et al. (2023) realizando estudos com a caracterização morfológica e molecular de *Byrsonima crassifolia*, na cidade de Nayarit, México, encontraram em quatro grupos de 15 acessos estudados uma variação média de 0,23 a 0,58 no conteúdo de informação polimórfica (PIC), valores este, inferiores ao do presente estudo.

**Tabela 3.** Variação genética estimada por cada *primer* microssatélite em *Birsonima cydoniifolia*.

<b>Primers</b>	<b>Motivo</b>	<b>Na</b>	<b>PIC</b>	<b><math>H_e</math></b>	<b><math>H_o</math></b>	<b><math>f</math></b>
BCY01	(TG) <sub>10</sub>	7	0,752	0,783	0,252	0,680
BCY02	(AG) <sub>8</sub> GA) <sub>20</sub>	11	0,525	0,543	0,008	0,986
BCY05	(CA) <sub>9</sub>	6	0,563	0,617	0,318	0,488
BCY06	(TG) <sub>8</sub>	8	0,653	0,703	0,110	0,844
BCY07	(CA) <sub>7</sub>	12	0,781	0,802	0,117	0,856
BCY08	(AG) <sub>14</sub>	5	0,397	0,494	0,433	0,127
BCY09	(AG) <sub>19</sub>	20	0,802	0,813	0,453	0,446
BCY10	(CA) <sub>12</sub>	13	0,621	0,666	0,194	0,711
BCY11	(TG) <sub>7</sub> T(AT) <sub>8</sub>	14	0,581	0,598	0,017	0,972
BCY12	(GT) <sub>8</sub>	12	0,878	0,889	0,250	0,721
BCY14	(TC) <sub>12</sub>	12	0,721	0,753	0,320	0,577
BCY16	(CT) <sub>15</sub>	12	0,728	0,759	0,592	0,224
<b>Média</b>		11	0,667	0,702	0,255	0,639

(Na) Número de alelos, (PIC) conteúdo de informação polimórfica, ( $H_e$ ) heterozigose esperada e ( $H_o$ ) observada e ( $f$ ) índice de fixação para os 12 *primers* microssatélites analisados nos 128 indivíduos de muricizeiros.

A variação genética avaliada em todos os *primers* com a heterozigose esperada foi bem maior que a observada, com média entre 0,702 e 0,255, respectivamente (Tabela 3). López-Guzmán et al. (2021) realizando estudos com a diversidade genética em abacateiros, na cidade de Nayarit, México, encontraram média de 0,34 de heterozigosidade observada, valor este, superior ao presente estudo. López-Guzmán et al. (2023) desenvolvendo estudos com a caracterização morfológica e molecular em populações nativas de muricizeiros (*Byrsonima crassifolia*), na cidade de Nayarit, México, encontraram valores relacionados a heterozigosidade esperada também maior que a observada em todos os *primers* avaliados e com médias entre 0,65 a 0,28. A frequência de heterozigotos na população é uma medida de diversidade (NEI, 1973) e quando a heterozigosidade esperada é maior que a observada, entende-se que há menos heterozigotos na população do que o previsto pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg (GOIS et al., 2009).

Diferente de zero e positivo foi o índice de fixação, onde os *primers* BCY02 e BCY11 apresentaram os maiores índices de fixação (0,986 e 0,972). Índice próximo de 1, indica quase zero de heterozigose (Tabela 3).

A diversidade genética proporcionada pela espécie nas quatro populações indicou a

população de Araguaiana-II com maior número de alelos (87), Araguaiana-I com menor número de alelos (66) e uma média de 74,5 alelos por população. A heterozigosidade esperada foi maior que a observada nas quatro populações estudadas. O maior índice de fixação entre as populações foi destaque para a população de Cocalinho (0,679) e o menor para Barra do Garças (0,516), com média geral de 0,615 (Tabela 4). Estudos realizados por Rodrigues (2021), na cidade de Barra do Garças, estado de Mato Grosso, com a espécie *Byrsonima cydoniifolia*, utilizando marcadores microssatélites para a análise da variabilidade genética em duas populações nativas de murici (Alencar e Beija-flor), destaca polimorfismo nas regiões amplificadas, onde a população Alencar apresentou um número de 71 alelos e média aproximada de 8,87 alelos por locos, enquanto que a população Beija-flor apresentou 66 alelos e uma média de 8,25 alelos por locos. Observando-se ainda, maior heterozigosidade para a população Alencar do que para Beija-flor.

**Tabela 4.** Variação genética estimada por população de *Byrsonima cydoniifolia*, com 12 *primers* microssatélites.

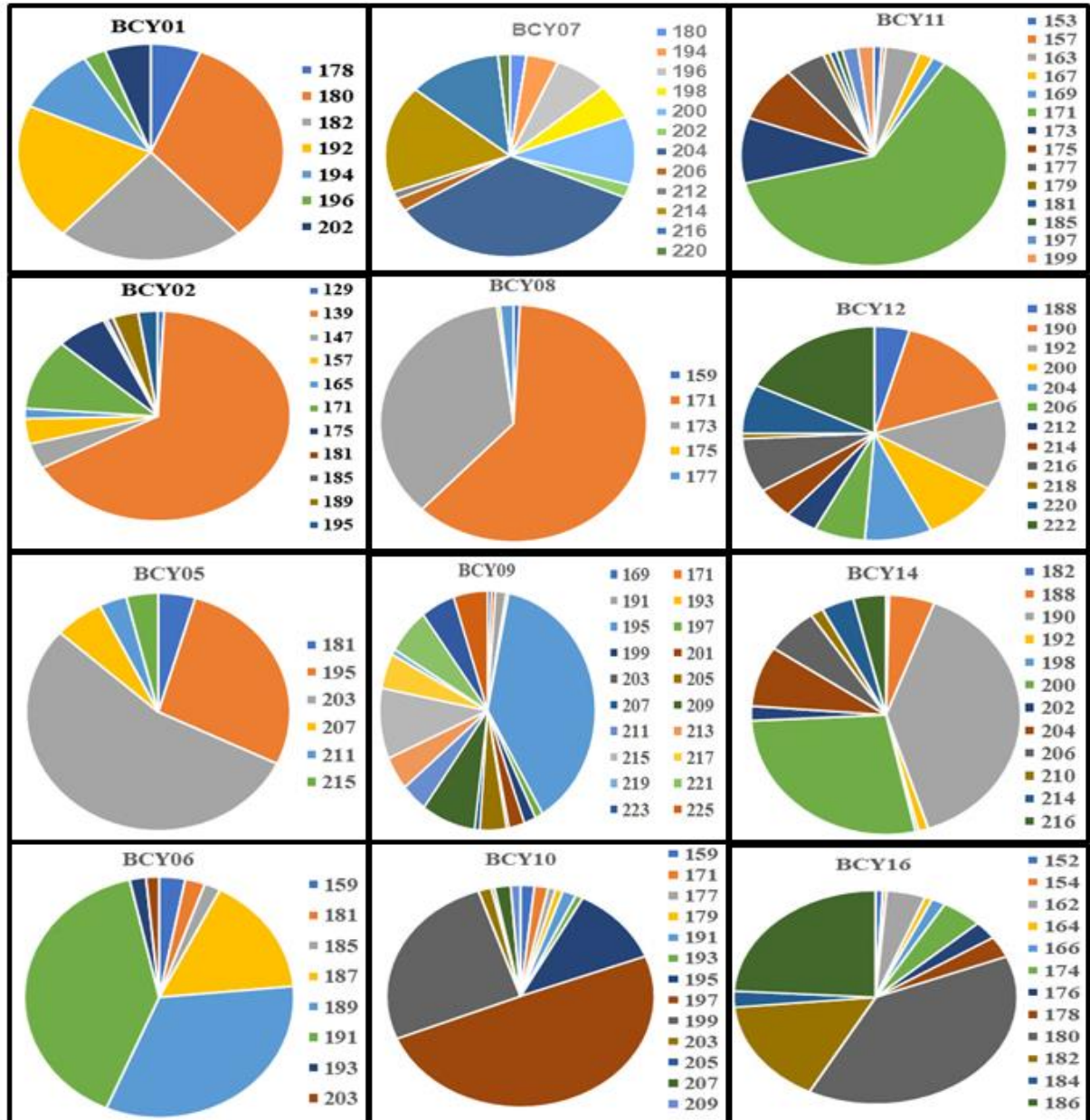
<b>Populações</b>	<b>Na</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>	<b>f</b>
Barra do Garças	71	0,584	0,289	0,516
Araguaiana-I	66	0,599	0,240	0,610
Araguaiana-II	87	0,638	0,227	0,653
Cocalinho	74	0,699	0,230	0,679
Média	74,5	0,630	0,247	0,615

Número de alelos (Na), heterozigosidade esperada (He) e observada (Ho) e índice de fixação (f).

As análises de todos os *loci*, assim como nas populações, apontaram endogamia e maior frequência de homozigotos do que heterozigotos. Dessa forma, a alta taxa de endogamia presente no estudo pode ser explicada pela ecologia e estrutura populacional de *B. cydoniifolia*, que é uma espécie pioneira na região, com tendência a formar aglomerações monodominantes (SILVA et al., 2020). Conforme Kageyama et al. (2003), espécies pioneiras tendem a apresentarem maiores taxas de cruzamentos entre parentes, devido à sua distribuição agregada, maior tamanho populacional e sobreposições nas gerações. Outro fator possível, pode ser a ocorrência da fragmentação de habitat, que leva ao isolamento de populações e consequente redução do número de indivíduos, gerando assim um maior nível de homozigose nas populações.

As frequências apresentadas por todos os *primers* microssatélites utilizados no presente estudo, mostraram-se polimórficas, onde observou maiores frequências em um, dois ou três alelos. O *primer* BCY08 apontou o menor número de alelos (05), onde o alelo 171 teve

a maior frequência (61%). Já o *primer* BCY09 teve o maior número de alelos (20) e o alelo 195 foi o mais frequente (38%). De todos os alelos em estudo, o que teve destaque na frequência com 66% foi o alelo 139 do *primer* BCY02. De forma geral, as frequências alélicas tiveram variação uniforme de 0,01 para os *primers* BCY02 (alelo 181), BCY08 (alelo 175), BCY09 (alelo 193, 203), BCY10 (alelo 205), BCY11 (alelo 157), BCY14 (alelo 182, 198) a 2,64 para o *primer* BCY02 (alelo 139). Os demais alelos indicaram distribuição pouco uniforme com maior frequência entre um ou dois alelos, ou maior número de alelos com baixa frequência (Figura 6). Análises semelhantes foram realizadas por Rodrigues (2021), em duas populações de *Byrsonima cydoniifolia*, localizadas no município de Barra do Garças, utilizando oito *primers* microssatélites, onde os resultados obtidos indicaram alto polimorfismo com variações nas frequências alélicas e número de alelos por *primers* nas populações entre 3 a 17 alelos.



**Figura 6.** Frequências alélicas dos 12 *primers* microssatélites estimada para os 128 indivíduos de *Byrsonima cydoniifolia*.

Foram encontrados 117 alelos raros, 43 exclusivos e 26 raros e exclusivos distribuídos nas quatro populações estudadas (Tabela 5). São considerados raros, quando apresentam uma frequência igual ou inferior a 0,05 (5%) e exclusivos aquele que não se repete na população (SEBBENN, 2003). A população de Araguaiana-II indicou um número maior de alelos raros (39), enquanto a população de Barra do Garças apresentou 16 alelos exclusivos e nove (09) alelos raros e exclusivos. Já o menor número de alelos raros ficou para as populações de Cocalinho (23) e Araguaiana-I com três (03) alelos exclusivos e dois (02) alelos raros e exclusivos (Tabela 5). Zortéa et al. (2021), avaliando a frequência alélica de 10 populações naturais de *Spondias mombin*, da família Anacardiaceae, no estado de Mato Grosso,

encontraram alelos raros e exclusivos amplamente distribuídos entre as populações de estudo, que se assemelham aos resultados obtidos nesta pesquisa. Devido a baixa frequência, os alelos raros são altamente suscetíveis a eliminação sob forças evolutivas. Já a presença de alelos exclusivos pode-se considerar uma ausência do fluxo alélico ou uma certa diferenciação entre as populações (MONTAGNA et al., 2012). O aparecimento desses alelos podem indicar uma ação da deriva genética na distribuição da diversidade genética da espécie, onde indivíduos são perdidos em cada período de retração e em cada ocorrência de queimadas, levando consigo parte da variabilidade da população. Além disso, os novos indivíduos que aparecem nas populações são obtidos através dos cruzamentos entre os sobreviventes, que pela proximidade podem ser aparentados. Sendo assim, tanto a deriva genética, quanto o cruzamento entre indivíduos próximos, podem ajudar a explicar a menor diversidade genética nas populações. Esses alelos, também são importantes para a conservação das espécies porque, supostamente, são eles que garantem a adaptação a ambientes específicos e, assim, podem ter grande valor em casos de mudanças ambientais bruscas ou mesmo como fonte de variabilidade genética para resistência ao ataque de pragas e doenças (SEBBENN, 2003).

**Tabela 5.** Alelos raros e exclusivos encontrados em cada população de *Byrsonima cydoniifolia* considerando os 12 *primers* microssatélites

<b>População</b>	<b>Alelos Raros</b>	<b>Alelos Exclusivos</b>	<b>R e E</b>
Barra do Garças	31	16	09
Araguaiana-I	24	03	02
Araguaiana-II	39	11	07
Cocalinho	23	13	08
<b>Total</b>	<b>117</b>	<b>43</b>	<b>26</b>

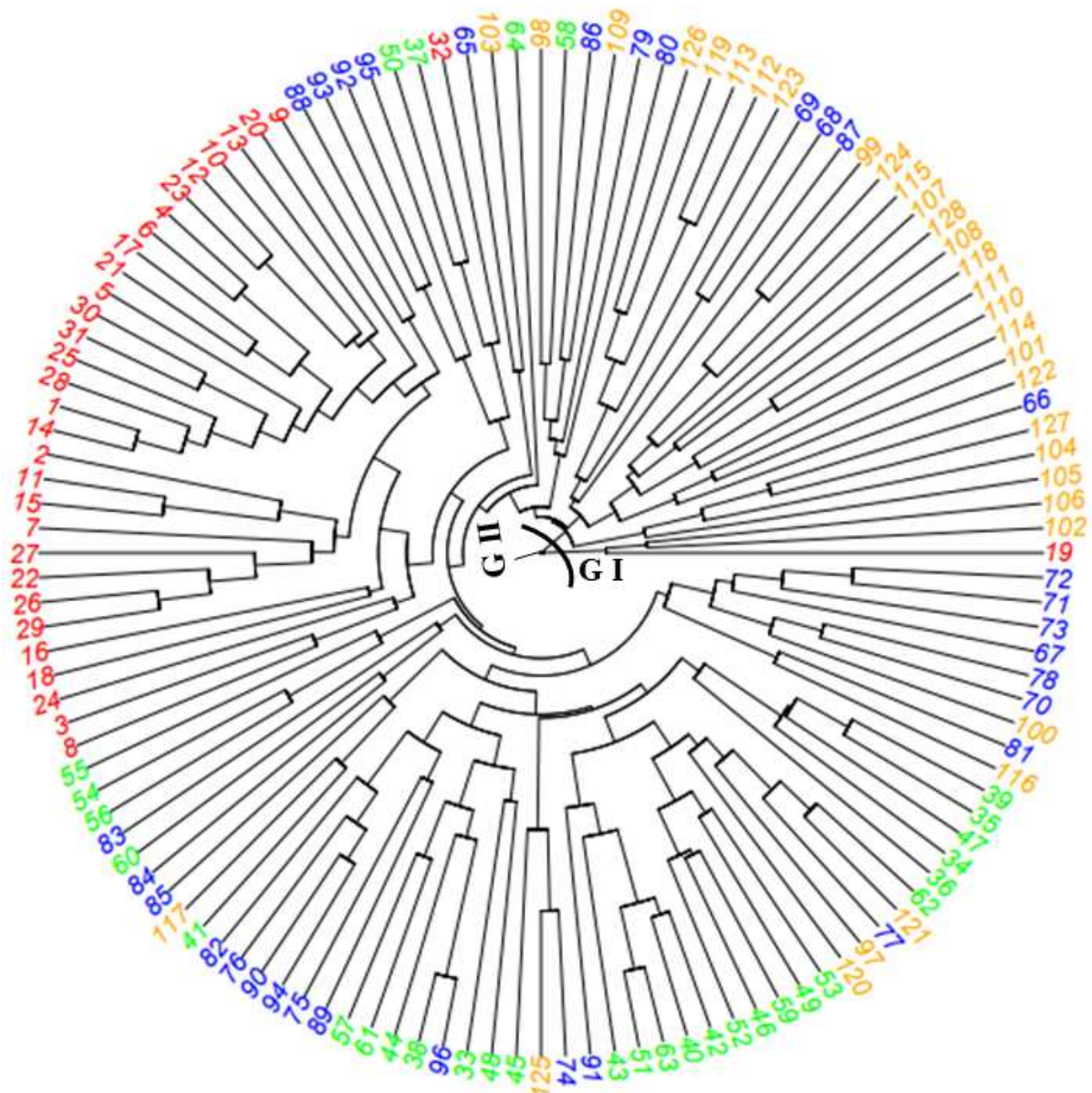
A comparação dos estudos de variância molecular dentro e entre das quatro populações de *B. cydoniifolia* demonstrou-se significativa, onde a menor variação ficou entre as populações (13%) e a maior dentro das populações (87%). Estes resultados sinalizam que há maior divergência genética entre indivíduos dentro de uma população do que entre populações. O  $F_{ST}$  (0,126) foi significativo ( $<0,001$ ), certificando-se, que há diferença na análise das populações (Tabela 6). Essa diferença pode ser considerada moderada, seguindo as definições de Wright (1978), onde a classificação se processa como baixa ( $0,00 \leq F_{ST} < 0,05$ ), moderada ( $0,05 \leq F_{ST} < 0,15$ ), alta ( $0,15 \leq F_{ST} < 0,25$ ) ou elevada ( $F_{ST} > 0,25$ ). Alguns fatores podem afetar o número de heterozigotos nas populações, como o sistema de acasalamento e a história evolutiva das espécies (MARTINS, 1987).

**Tabela 6.** Análise de Variância Molecular (AMOVA) das quatro populações de *Byrsonima cydoniifolia* com os 12 *primers* microssatélites

<b>Fonte de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>CV</b>	<b>VT(%)</b>	<b>Valor de p</b>
Entre populações	3	120,258	0,565	13	<0,001
Dentro de populações	252	991,250	3,934	87	
<b>Total</b>	<b>255</b>	<b>1111,508</b>	<b>4,499</b>	<b>100</b>	

Grau de Liberdade (GL), Soma dos Quadrados (SQ), Componente de Variância (CV), Variância Total (VT) e p são as probabilidades de ter um componente de variância maior que os valores observados ao acaso. As probabilidades foram calculadas por 999 permutações ao acaso.  $F_{ST} = 0,126$ .

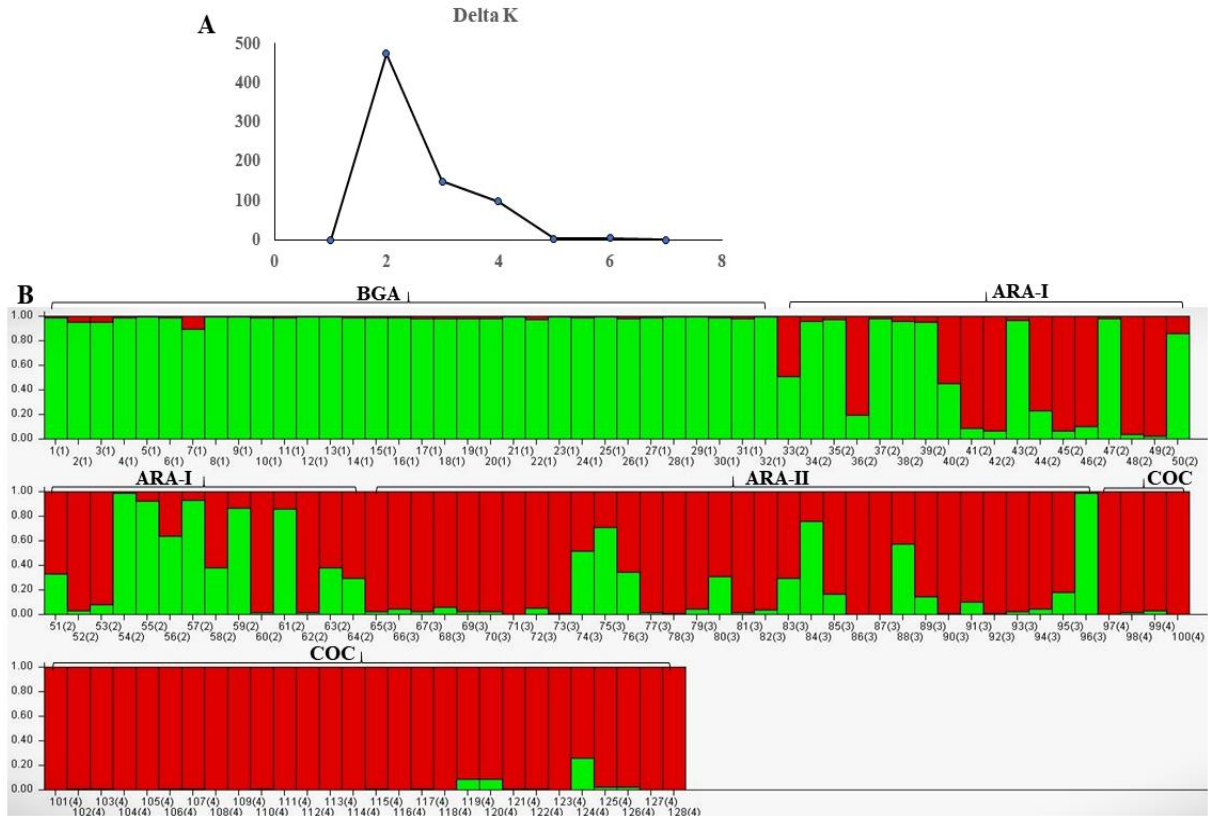
Os 128 indivíduos de *B. cydoniifolia* analisados foram divididos através do método UPGMA, em dois grupos principais. Os indivíduos 19, 102 e 106, pertencentes as populações de Barra do Garças e Cocalinho formaram o grupo I. Já o grupo II foi formado pelos demais indivíduos distribuídos nas quatro populações (Figura 7). Resultados que se assemelham a estes foram encontrados por Santos et al. (2020), estudando a variação de sementes e frutos de *Byrsonima crassifolia* no norte do Estado de Mato Grosso, com o método UPGMA. A maior distância genética encontrada entre os pares de indivíduos da espécie, foi de 0,958 com os indivíduos 83 e 108, 71 e 106, 71 e 102, 72 e 102, 83 e 115, 83 e 118; e a menor correspondendo a 0,106 com os indivíduos 96 e 38, conforme matriz de distância genética. Observou-se ainda que a grande maioria dos indivíduos ficaram inseridos no grupo II, entretanto, é possível notar a existência de variações genética entre os indivíduos e populações, onde, é nítida a formação de subgrupos e conforme o corte utilizado no dendrograma pode-se isolar outros indivíduos como: 64, 65, 81, 103 e 116 (CRUZ et al., 2014).



**Figura 7.** Agrupamento dos 128 indivíduos de *Byrsonima cydoniifolia* obtido por meio do método UPGMA, com base na distância genética de NEI (1983). Populações: Barra do Garças (vermelho), Araguaiana-I (verde), Araguaiana-II (azul) e Cocalinho (laranja).

As informações obtidas com base na análise de estrutura de populações corroboram com os resultados alcançados através do método UPGMA, formando dois grupos geneticamente distintos ( $K=2$ ), apresentados em barras verticais nas cores verde e vermelho (Figura 8). A análise mostrou 51 indivíduos alocados na cor verde, pertencentes as populações: BGA, ARA-I e ARA-II, e agrupados no grupo I e II do dendrograma. Na cor vermelha ficaram destacados 77 indivíduos, pertencentes as populações: ARA-I, ARA-II e COC, e agrupados no grupo I e II do dendrograma. Zortéa et al. (2021), avaliando a estrutura genética de 139 indivíduos naturais de *Spondias mombin*, no estado de Mato Grosso, por meio de marcadores moleculares microssatélites, encontraram uma distribuição de dois grupos genéticos gerados

pelos programas Structure, semelhantes a presente pesquisa.

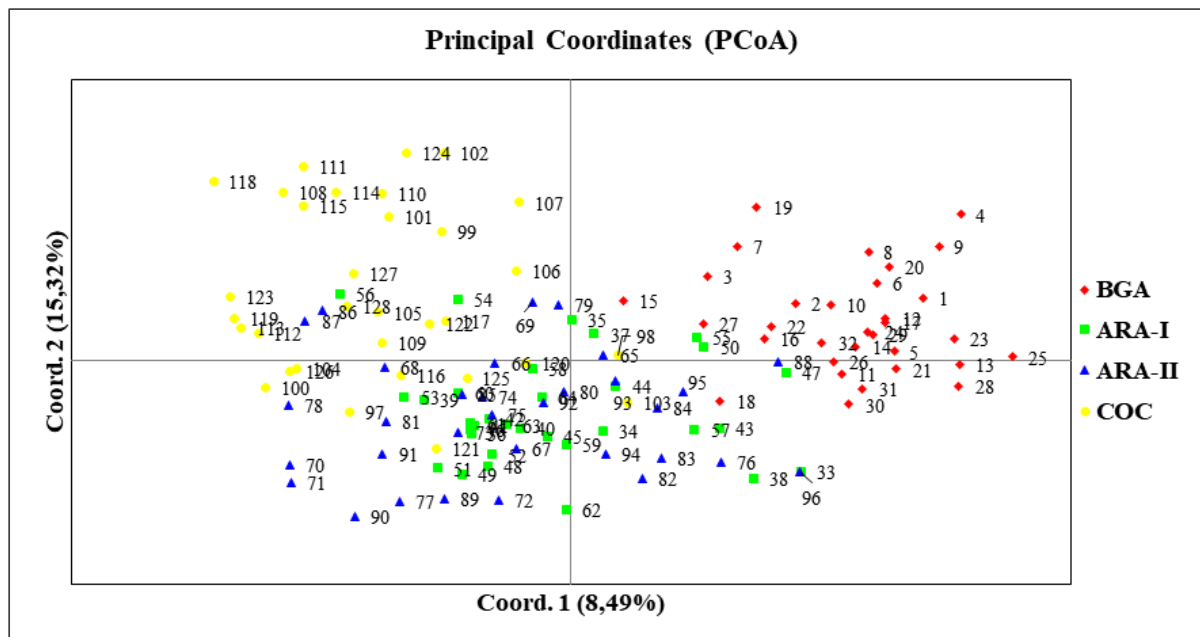


**Figura 8.** Análise de estrutura das populações realizada pelo programa STRUCTURE. Valores de  $\Delta K$  evidenciando o melhor K com um pico maior em  $k=2$  (A); Representação dos 128 indivíduos das quatro populações de *Byrsonima cydoniifolia* com base em 12 *primers* microsatélites. Distribuição dos dois grupos geneticamente gerado pelo STRUCTURE, representando através das cores os coeficientes de associação de cada indivíduo entre as populações amostradas (B).

A análise de estrutura das populações mostrou através do agrupamento entre as quatro populações, a formação de dois grupos genéticos. Observa-se o destaque da população de BGA na cor verde. Já para as populações de ARA-I e ARA-II, ocorreu uma mesclagem entre as cores vermelho e verde para alelos e grupos. De modo prático, a população de COC em sua quase totalidade, teve destaque com a cor vermelha. Assim sendo, a estrutura genética de *B. cydoniifolia* está relacionada com a estrutura geográfica, onde as populações geneticamente semelhantes (ARA-I e ARA-II) são as mais próximas geograficamente, enquanto que BGA e COC são as mais distantes geograficamente. Misturas semelhantes a estas, foram encontradas por Zortéa et al. (2021), estudando populações naturais de *Spondias mombin*, no estado de Mato Grosso, com destaque e mesclagem entre as cores.

Em relação a análise das coordenadas principais, ambas explicaram juntas 23,81% da variação ocorrida entre as populações em estudo. Na primeira coordenada, a variação foi de 8,49% e na segunda 15,32% (Figura 9). Em comparação a análise de estrutura das populações, observou-se também nesse agrupamento as separações dos indivíduos para as populações de

BGA e COC em sua quase totalidade e a mistura dos indivíduos para as populações de ARA-I e ARA-II. De acordo com Souza (2014), avaliando a diversidade genética da espécie *Anacardium humile*, espécie conhecida como cajuzinho do cerrado, com nove locos microssatélites, em 14 populações preservadas na coleção de germoplasma da Universidade Federal de Goiás, Jataí-GO, nota-se entre as populações de estudo uma dispersão dos indivíduos semelhantes ao presente estudo.



**Figura 4.** Dispersão gráfica dos 128 indivíduos de *Byrsonima cydoniifolia* obtido pelo método de análise das coordenadas principais (PCoA) com as populações amostradas.

As populações de Araguaiana I e II, foram as mais próximas geneticamente, já Barra do Garças e Cocalinho, representam as mais distantes geneticamente, como se observa pelos agrupamentos entre o Structure e as coordenadas principais PCoA. Essas diferenças, possivelmente estão relacionadas com a distância geográfica entre essas populações, baixo fluxo gênico dessas populações com as demais ou efeito fundador. Todas as populações de muricizeiros caracterizadas neste estudo, através dos marcadores microssatélites, apresentaram diversidade genética e potencial para serem utilizadas em estudos de melhoramento genético com a espécie. Nesse sentido, a conservação e a manutenção das populações nativas nos biomas existentes, podem prevenir a erosão genética da espécie, garantindo a variabilidade genética para programas de melhoramento.

## CONCLUSÕES

Todos os *primers* utilizados nas quatro populações amostradas no estado de Mato Grosso apresentam diversidade genética para a espécie em estudo, destacando a população de Araguaiana-II com o maior número de alelos. O menor índice de diversidade apresentado nas populações parecem estar relacionados com a deriva genética, queimadas e com as influências antrópicas pronunciadas nas populações.

A maior variação genética foi de 87%, ocorrida dentro das populações.

Todas as populações apresentaram um elevado número de alelos raros e exclusivos. Isso, exige uma conservação necessária para que a espécie possa, garantir a sua sustentabilidade e existência para futuras gerações. Além disso, a espécie possui potencial a ser explorado em programas de conservação ou até mesmo em programas de melhoramento genético.

Os métodos UPGMA, análise de estrutura das populações e coordenadas principais, apresentaram a formação de dois grupos genéticos, com destaque no distanciamento para as populações de Barra do Garças e Cocalinho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E. D. L.; PRADO, M. F.; SPECIAN, V. Análise da variabilidade climática da precipitação pluvial em Barra do Garças, Mato Grosso. **Brazilian Geographical Journal : Geosciences and Humanities research medium**, Uberlândia, v. 2, n. 2, p. 512-523, 2011. Disponível: [file:///C:/Users/borke/Downloads/admin,+16+BGJournal%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/borke/Downloads/admin,+16+BGJournal%20(3).pdf)

AMÂNCIO, B. C. S.; GOVÊA, K. P.; TRINDADE, L. O. R.; CUNHA NETO, A. R.; SOUZA, T. C.; BARBOSA, S. Sandwich methods applied to the screening of allelopathic action in *Byrsonima* spp. (Malpighiaceae). **Biologia**, v. 75, p. 175-182, 2020. <https://doi.org/10.2478/s11756-019-00369-x>

BARTIMACHI, A.; NEVES, J.; PEDRONI, F. Predação pós-dispersão de sementes do angico *Anadenanthera falcata* (Benth.) Speg. (Leguminosae-Mimosoideae) em mata de galeria em Barra do Garças, MT. **Brazilian Journal of Botany**. v. 31, n. 2, p. 215-225, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042008000200004>

BERNARDES, V.; ANJOS, D. E.; GONDIM, S. G. C. A.; MURAKAMI, D. M.; BIZÃO, N.; TELLES, M. P. C. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Byrsonima cydoniifolia* (Malpighiaceae) and cross-amplification in *B. crassifolia*. **Applications in Plant Sciences**, v. 2, n. 5, 1400016, 2014. Doi: 10.3732/apps.1400016.

BERNARDES, V. Variabilidade genética e conservação de *Byrsonima cydoniifolia* A. JUSS. (MALPIGHIACEAE). **Tese** (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás. 2018

BERNARDES, V.; MURAKAMI, D. M.; BIZÃO, N.; SOUZA, T. N.; SILVA, M. J.; TELLES, M. P. C. Transferability and characterization of microsatellite markers from *Byrsonima cydoniifolia* A. Juss. (MALPIGHIACEAE) in seven related taxa from Cerrado biome reveal genetic relationships. **Mol Biol Representante**. n. 48, v. (5), p: 4039-4046, 2021. doi: 10.1007/s11033-021-06411-z.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v. 32, n. 3, p. 314 - 331, 1980. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1686077/pdf/ajhg00189-0020.pdf>

CARNEIRO-VIEIRA, M. L.; SANTINI, L.; LIMA-DINIZ, A.; MUNHOZ, C. F. Marcadores de microsátélites: qué significan y por qué son muy útiles. **Genética y Biología Molecular** 39: 312-328, 2016. DOI: 10.1590/1678-4685-gmb-2016-0027

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV. v. 2, 3ª edição, p. 668, 2014.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12, n.1, p: 13-15,1990.Disponível em:file:///C:/Users/borke/Downloads/DoyleDoyle\_Focus\_1990\_CTAB%20(1).pdf

EARL, D. A.; VONHOLDT, B. M. Structure Harvester: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation genetics resources**, v. 4, n. 1, p. 359-361, 2012. DOI 10.1007/s12686-011-9548-7

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular ecology**, v. 14, n. 8, p. 2611-2620, 2005. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>

GOIS, I. B.; SILVA-MANN, R.; FERREIRA, R. A. Variabilidade genética de *Spondias lutea* L. em uma população do baixo São Francisco sergipano, por meio de isoenzimas. **Scientia Forestalis**, v. 37, n. 81, p. 55-60, 2009. Disponível em: <http://ri.ufs.br/jspui/handle/riufs/11886>

GURGEL, F.L. **O murucizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.]**: avanços no conhecimento e ações de pré-melhoramento. Brasília, DF, 21ª edição, 634.6, Embrapa, 2016. Disponível em: <[www.embrapa.br/amazônia-oriental/publicacoes](http://www.embrapa.br/amazônia-oriental/publicacoes)>

KAGEYAMA, P.Y.; SEBBENN, 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**, v. 64, p. 93-107, 2003. Disponível em: <https://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr64/cap08.pdf>

KALIA, R. J.; RAI, M. K.; KALIA, S.; SINGH, R.; DHAWAN, A.K. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. **Euphytica**, v. 177, p: 309–334, 2011. <https://doi.org/10.1007/s10681-010-0286-9>

KUMAR, S.; TAMURA, K.; NEI, M. Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. **Briefings in bioinformatics**, v. 5, n. 2, p: 150-163, 2004. Doi: 10.1093/bib/5.2.150

LIU, K.; MUSA, S. V. PowerMarker: Integrated analysis environment for genetic marker data. **Bioinformatics**, v. 21, n. 9, p. 2128-2129, 2005. Doi: 10.1093/bioinformática/bti282.

LÓPEZ-GUZMÁN, G. G.; PALOMINO-HERMOSILLO, Y. A.; BALOIS-MORALES, R.; BAUTISTA-ROSALES, P. U.; JIMÉNEZ-ZURITA, J. O. Diversidad genética del aguacate criollo en Nayarit, México, determinada por el ISSR. **Revista Agrosavia**. 22: 1-14, 2021. DOI: 10.21930/rcta.vol22\_num1\_art:1686.

LÓPEZ-GUZMÁN, G. G.; MORALES, R. B.; ROSALES, B. P. U.; ZURITA, J. O. J. Caracterización morfológica y molecular de nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) nativo de Nayarit, México. **Ecossistemas e recursos agropecuários**, v. 10, n. 3, p: 3714, 2023. <https://doi.org/10.19136/era.a10n3.3714>

MARTINS, P. S. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação “*in situ*”. **Revista IPEF**, n. 35, p. 71-78, 1987.

MENEZES FILHO, A. C. P. Características da conservação, química, fitoterapêutica, bioativa e alimentar de *Byrsonima verbascifolia* Rich. ex. A. Juss. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, 9(1), 118–130, 2021. <https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n1.pereiramenezes>

MONTAGNA, T.; FERREIRA, D. K.; STEINER, F.; FERNANDES, C. D.; BITTENCOURT, R.; DA SILVA, J. Z.; MANTOVANI, A.; REIS, M. S. A. Importância das unidades de conservação na manutenção da diversidade genética de xaxim (*Dicksonia sellowiana*) no Estado de Santa Catarina. **Biodiversidade Brasileira-Bio Brasil**, n. 2, p. 26-32, 2012. <https://doi.org/10.37002/biodiversidadebrasileira.v2i2.271>

MULLER, K. E. Z.; ROSSI, A. A. B.; TIAGO, A. T.; SANTOS, E. C.; PINTO, M. A. J.; HOOGERHEIDE, E. S. S. *Spondias mombin* (Anacardiaceae): molecular characterization and conservation. **Revista de Biología Tropical**, 69(3), 1023- 1036, 2021. <https://doi.org/10.15517/rbt.v69i3.45810>

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 70, n. 12, p. 3321-3323, 1973. Doi: 10.1073/pnas.70.12.3321.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel: population genetic software for teaching and research; an update. **Bioinformatics**, v. 28, n. 19, p: 2537-2539, 2012. Doi: 10.1093/bioinformatics/bts460

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945-959, 2000. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>

RODRIGUES, K. V. Análise da variabilidade genética de duas populações de murici da espécie *Byrsonima cydoniifolia* A. Juss. Através de marcadores microsatélites. **TCC – Trabalho de Conclusão de Curso**, v. 42, Barra do Garças – MT, 2021

SANTOS, J. F. L.; ROSSI, A. A. B.; PENA, G. F.; TIAGO, A. V.; ZORTÉA, K. E. M.; CARDOSO, E. S.; PEDRI, E. C. M.; SANTOS, I. C. B.; SANTOS, P. H. D.; SANTOS, D. B.; SANTOS, I. R. B. Variability of fruits and seeds of *Byrsonima crassifolia* (Malpighiaceae)

genotypes cultivated in northern Mato Grosso State, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, n. 19, v. 2, 2020. Doi <http://dx.doi.org/10.4238/gmr18620>

SEBBENN, A. M. Número de populações para conservação genética in situ de espécies arbóreas. **Revista do Instituto Florestal**, v. 15, n. 1, p. 45-51, 2003. DOI: <https://doi.org/10.24278/2178-5031.2003151435>

SILVA, M. F.; SILVA, E. F.; SOUZA, W. S.; OLIVEIRA, I. L.; CASTRILLON, S. K. I. Uso e conservação de *Byrsonima cydoniifolia* A. Juss. da cidade de Cáceres, Mato Grosso. **Anais do XI Congresso Brasileiro de Agroecologia**, São Cristóvão, Sergipe, v. 15 n. 2, 2020. Disponível em: <https://cadernos.aba-agroecologia.org.br/cadernos/article/view/5398/3908>

SOUZA, J. M. Diversidade genética em acessos de *Anacardium humile* st. hill usando marcadores microssatélites. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Jataí, v, 54 f.: il. 2014. Disponível em: <http://bdtd.ufj.edu.br:8080/bitstream/tede/68/3/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20Josimar%20Morais%20de%20Souza%20-%202022.pdf>

TIAGO, A. V.; HOOGERHEIDE, E. S. S.; PEDRI, E. C. M.; ROSSI, F. S.; CARDOSO, E. S.; J. M. A.; PENA, G. F.; ROSSI, A. A. B. Genetic diversity and population structure of cassava ethno-varieties grown in six municipalities in the state of Mato Grosso, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 18, n. 4, p. 1-17, 2019. Doi <http://dx.doi.org/10.4238/gmr18357>

VAZ, R. K. Análise da variabilidade genética de duas populações de murici da espécie *Byrsonima cydoniifolia* A.Juss. através de marcadores microssatélite. 52 f, 2021. **Monografia** (Bacharel em Agronomia) - Instituto de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal do Mato Grosso, Barra do Garças. <http://bdm.ufmt.br/handle/1/2354>

WRIGHT, S. **Evolution and the genetics of populations**. University of Chicago Press: Chicago, v.4, 1978. Disponível: <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1966008>

## 4.2 CAPÍTULO II

### MORFOLOGIA, VIABILIDADE POLÍNICA E ÍNDICE MEIÓTICO DO MURICI

[*Byrsonima cydoniifolia* (A.) JUSS]

#### RESUMO

*Byrsonima cydoniifolia*, uma espécie florestal da família Malpighiaceae, com distribuição geográfica em todo o território brasileiro, tendo maiores destaques nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste. O objetivo do estudo foi determinar a viabilidade polínica, índice meiótico e morfologia do pólen em diferentes populações nativas de muricizeiros na região Leste de Mato Grosso. Em cada população foi selecionado cinco indivíduos e coletados botões florais em estágios de desenvolvimento. Para a caracterização morfológica dos grãos de pólen, estes foram submetidos ao protocolo de acetólise e posteriormente, fotografados, medidos e classificados quanto ao tamanho, forma, ornamentação e índice de área polar. A estimativa do índice meiótico ocorreu-se pela contagem de produtos pós-meióticos. A viabilidade polínica via teste colorimétrico foi estimada com o corante Reativo de Alexander. A presença de substâncias de reserva foi avaliada com lugol e sudan IV. A classificação morfológica dos grãos de pólen apresentou como resultados: polens prolato-esferoidal, pequenos, 3-colporados, com colpo denominando-se grãos de pólen tricolporados com área polar grande. A exina apresentou região na área polar como microrreticulada. O índice meiótico diferiu entre as populações e entre os indivíduos e foi superior a 95%. A viabilidade polínica mostrou eficiência na distinção dos pólenes viáveis e inviáveis e superior a 90%. Os grãos de pólen possuem amido e lipídeos como substância de reserva. Verificou-se que a espécie possui alta estabilidade e regularidade meiótica. As informações deste estudo ajudam a compreender a ecologia, conservação, dispersão e o potencial de propagação que garante o sucesso reprodutivo da espécie.

**Palavras-chave:** Murici; Grão de pólen; Citoquímica; Reativo de Alexander; Populações.

#### INTRODUÇÃO

*Byrsonima cydoniifolia* A.JUSS., é uma planta florestal, nativa da família Malpighiaceae, originária e dispersa na Amazônia, distribuída geograficamente em todo território nacional, com maiores frequências para as regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste, incluindo aproximadamente 38 gêneros e 300 espécies (SANTOS et al., 2018). O gênero *Byrsonima* apresenta ainda outras espécies conhecidas pelo nome de murici, onde os frutos tem baixa qualidade e pouco apreciados, sendo elas: *Byrsonima lancifolia* Juss. (murici-miúdo), *Byrsonima crispera* Juss. (murici-da-mata), *Byrsonima amazonica* Gris (murici-vermelho) e *Byrsonima verbascifolia* (L.) Rich (murici-rasteiro) (MENEZES FILHO, 2021).

A espécie tem sido utilizada para fins terapêutico pela sua ação anti-inflamatória e cicatrizante, possui uma grande quantidade de componentes antioxidantes, como compostos carotenóides, ácido ascórbico e fenólicos. A mesma tem despertado também grande interesse na comunidade científica, apresentando variabilidade genética em seus aspectos reprodutivos,

permitindo sua utilização em programas de melhoramento genético de plantas, visando o desenvolvimento de genótipos superiores. A eficácia de seus aspectos reprodutivos dependem diretamente dos tipos de polinização e da viabilidade do pólen. O estudo dos grãos de pólen permite obter conhecimentos aplicáveis a taxonomia, paleopolinologia, conservação e entendimento do potencial de propagação que garante o sucesso reprodutivo de uma espécie (BLACKMORE, 2007; ÁVILA-JUNIOR et al., 2015; LUZ et al., 2018).

Pesquisas sobre a morfologia de polens, tem mostrado grande variabilidade, considerando sua importância taxonômica e ainda serem utilizadas na classificação e identificação das espécies em gêneros e famílias (TALLEDO et al., 2019).

Através do processo de estimativa dos aspectos polínicos de uma espécie podemos identificar sua reprodução masculina e avaliar nos grãos de pólen a presença dos componentes celulares (LUZ et al., 2022). Na reprodução de forma sexuada em espécies vegetais, os grãos de polens realizam o transporte entre os gametas através dos agentes polinizadores, desempenhando um papel fundamental tanto na produtividade como na reprodução da planta, onde, a garantia de um sucesso reprodutivo está na dependência de polens viáveis, originários de um processo meiótico ocorrido nas anteras (SOUZA et al., 2022).

Um processo meiótico regular, proporciona um elevado percentual de polens viáveis, com um alto número de células tétrades normais. Já a anormalidade de células que ocorrem durante a meiose, podem levar à formação de gametas com cromossomos não balanceado, o que geralmente o torna inviável (NASCIMENTO et al., 2014), proporcionando a planta sua infertilidade (POSSOBOM et al., 2021).

Os grãos de pólen também fornece informações sobre ecologia e dispersão da espécie nas análises dos conteúdos de reservas dos mesmos. Onde substâncias de reservas, carboidratos, proteínas e lipídeos são encontradas em polens maduros (REIS; KIRSCH, 2020). Essas reservas garante energia para que o grão de pólen possa germinar e indicar o tipo de polinização da espécie (BAKER; BAKER, 1979; PACINI et al., 2006).

A viabilidade dos grãos de pólen e a estabilidade meiótica permite indicar o potencial de cruzamentos da planta (LOVE, 1951). Nos programas de melhoramentos vegetais, a viabilidade polínica tem grande importância, pois com essa informação, torna possível a obtenção de correlações com anormalidades meióticas, auxílio na seleção de genótipos e inferências na eficiência dos cruzamentos (FRIZON et al., 2021).

Este trabalho objetivou, a determinação da morfologia, da viabilidade polínica, índice meiótico e citoquímica dos grãos de pólen de *B. cydoniifolia* em quatro populações nativas, por meio de testes colorimétricos.

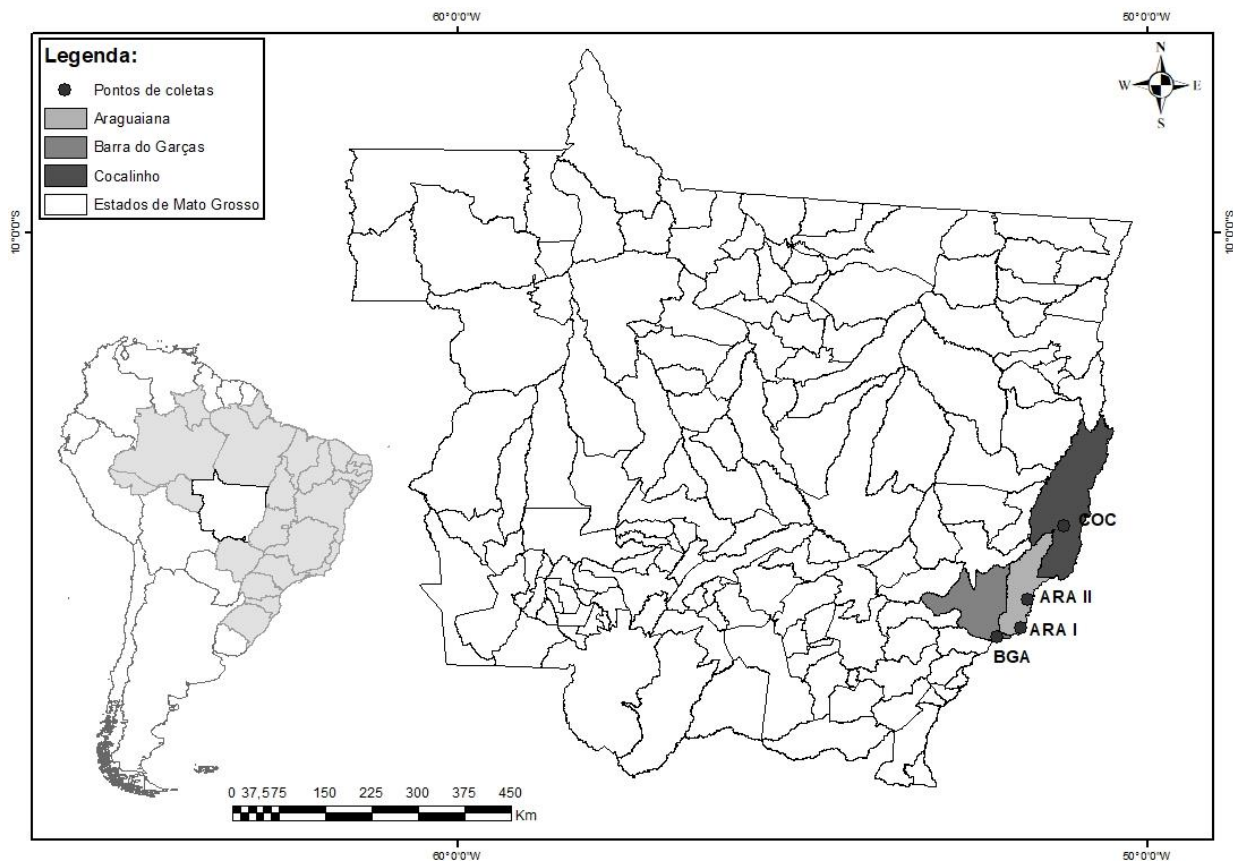
## MATERIAIS E MÉTODOS

### Área de estudo

As coletas para o estudo foram realizadas em quatro populações nativas de *B. cydoniifolia*, região leste do estado de Mato Grosso (Tabela 1).

**Tabela 1.** Localização das coletas de botões florais nos biomas de cerrado, Mato Grosso, Brasil.

Indivíduos	Populações	Sigla	Latitudes	Longitudes
BGA01 a BGA05	Barra do Garças	BGA	52°39' 27"W	15°42' 22"S
ARA06 a ARA10	Araguaiana-I	ARA-I	51°18' 20"W	15°28' 54"S
ARA11 a ARA15	Araguaiana-II	ARA-II	51°21' 44"W	15°12' 35"S
COC16 a COC20	Cocalinho	COC	51°05' 58"W	14°36' 44"S



**Figura 1.** Localização geográfica dos municípios amostrados no estado de Mato Grosso, Brasil.

O clima da região dos municípios onde realizou-se a coleta, conforme a classificação de Köppen, se identifica com o tipo AW (clima quente e úmido) com duas estações bem definidas, verão chuvoso (outubro a março) e inverno seco (abril a setembro). A precipitação média anual é de 1.578,9 mm e a temperatura média anual 25,6 °C (BARTIMACHI et al., 2008). Esses municípios encontram-se numa área sedimentar de chapadas e serras do Planalto do médio Rio das Mortes e Alto Xingú-Araguaia e ainda com a Serra do Roncador e Serra Azul (ALVES et al., 2011). A vegetação que predomina nesses Municípios são: Cerrado (Savana com arborização), com presença de Cerrado e Campo (Savana Parque), Cerradão fragmentado

(Savana Florestada), Matas de Galeria, Veredas e Florestas Aluviais (Floresta Estacional Semidecidual Aluvial) (ALVES et al., 2011).

Para identificação da espécie foram coletados quatro ramos com folhas e inflorescências durante o período de floração (Agosto/2021), dentro de cada população das áreas de ocorrência natural, sendo o material conduzido ao HERBAM (Herbário da Amazônia Meridional) da Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado para montagem das exsicatas e posterior descrição. A coleta, preservação e herborização do material foi realizada conforme metodologia proposta por Fidalgo e Bonomi (1989). O material foi depositado sob os números de tomo: 26690, 26691, 26692 e 26693.

### Coleta dos botões florais

Botões florais em desenvolvimento foram coletados de cinco indivíduos de forma aleatória dentro de cada população. No momento da coleta, os botões florais foram colocados em solução de álcool etílico e ácido acético glacial para fixação (3:1 v/v). Sendo conduzidos ao Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular (GenBioMol), da Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado, Campus de Alta Floresta. Após 24 horas, esses botões foram transferidos para álcool 70% e conservados em refrigeração de 4 °C até a utilização para avaliação da viabilidade polínica, morfologia e produtos pós-meióticos.



**Figura 2.** Botões e flores de *Byrsonima cydoniifolia*. A – Racimos com botões florais em diferentes estádios de desenvolvimento; B – Flores hermafroditas; C – Racimos depositados em solução de álcool etílico e ácido acético glacial (3:1 v/v) e D – Racimos mantidos em álcool 70%. Fonte: o autor.

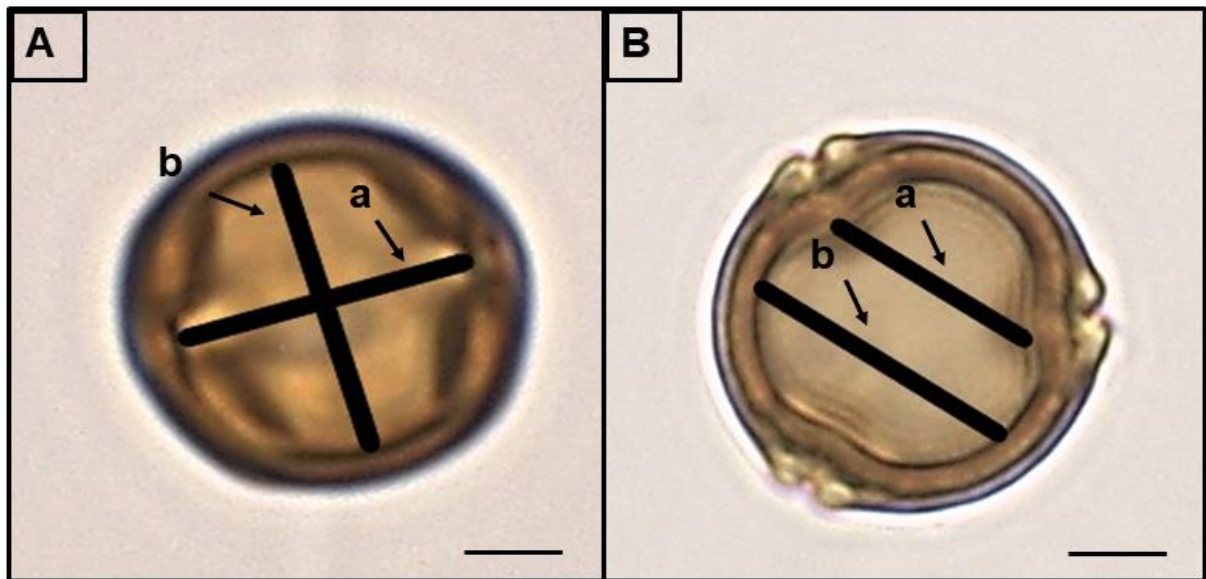
### **Caracterização morfológica do pólen**

Os grãos de pólen foram submetidos ao método de acetólise descrito por Erdtman (1943). As anteras foram cortadas e depositadas em microtubos de 1,5 mL, com 500 µL de ácido acético, por 20 minutos. Em seguida, os microtubos foram centrifugados por cinco minutos a 3.000 rpm e o sobrenadante descartado. Posteriormente, adicionou-se no microtubo 1 mL da solução acetólica contendo anidrido acético e ácido sulfúrico (9:1 v/v). Essa solução tem como função remover o conteúdo celular do grão de pólen por hidrólise ácida, facilitando a identificação de sua morfologia.

A técnica usada com os grãos de pólen foi a mistura acetólica em banho-maria a uma temperatura de 100 °C por dois (2) minutos. Após, houve a centrifugação do material a 3.000 rpm por cinco (5) minutos, descartando cuidadosamente a mistura. Em seguida, acrescentou-se um 1 mL de água destilada e 100 µL de álcool etílico absoluto, centrifugando-o novamente. O sobrenadante foi descartado, ficando no microtubo apenas os polens. Logo em seguida, adicionou-se 1 mL de solução de água destilada e glicerina na proporção (3:1 v/v). Os polens foram mantidos nesta solução por aproximadamente 2 horas antes do preparo das lâminas (ERDTMAN, 1943).

Para evitar erros provenientes do intumescimento e alterações nos polens, as imagens foram obtidas logo após o preparo das lâminas no mesmo dia em que se realizou a acetólise (SALGADO-LABOURIAU, 1973). A observação das lâminas foram realizadas em microscópio óptico binocular Biocam com magnitude de 40X. A coleta das imagens ocorreu através da câmera CMOS 1.3 ajustada ao microscópio com auxílio do sistema de captura de imagens TsView 7.

As mensurações realizadas aconteceu entre o diâmetro polar e equatorial em vista equatorial (grão de pólen em posição perpendicular à vista polar), o diâmetro equatorial e apocolpo em vista polar (grão de pólen com a superfície polar para o observador) dos grãos de pólen e a espessura da camada exina. As medições foram feitas em 25 grãos de pólen na vista equatorial e 25 em vista polar, com auxílio do programa Anati Quanti 2® UFV (AGUIAR et al., 2007).



**Figura 3.** Representação das medidas dos grãos de pólen de *Byrsonima cydoniifolia*: A) medida do diâmetro equatorial (letra a) em vista equatorial e do eixo polar (letra b); B) medida do apocolpo (letra a) em vista polar e do diâmetro equatorial (letra b). Barra = 15 µm.

De acordo com Erdtman (1943), a identificação sobre a forma do grão de pólen foi obtida por meio da relação com o eixo polar e o eixo equatorial (P/E) em vista equatorial. Conforme Erdtman (1945), a estimação do tamanho do grão de pólen, baseou-se na medida do eixo maior entre as classes seguintes: muito pequenos (< 10 µm), pequenos (10-25µm), médios (25-50 µm), grandes (50-100 µm), muito grandes (100-200 µm) e gigantes (> 200µm) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Classificação dos grãos de pólen com base na razão P/E.

Classes de Pólen	
P/E	Denominação
0,50	Peroblato
0,50 – 0,74	Oblato
0,75 – 0,87	Suboblato
0,88 – 0,99	Oblato-esferoidal
1,00	Esférico
1,01 – 1,14	Prolato-esferoidal
1,15 – 1,33	Subprolato
1,34 – 2,00	Prolato
2,00	Perprolato

Subesferoidal

Classificou-se também os polens pelo Índice de Área Polar (IAP) proposto por Barth e Melhem (1988) que ocorre nas relações existentes das extremidades de suas aberturas adjacentes (ou suas margens) como também em vista polar a sua largura maior. A descrição polínica das terminologias adotadas tiveram como base o glossário de Barth (1965) e Punt et al. (2007) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Classificação dos grãos de pólen em relação ao índice de área polar (IAP):

<b>Denominação</b>	<b>Intervalo do I.A.P.</b>
Sem área polar	0
Área polar muito pequena	<0,25 (abertura muito longa)
Área polar pequena	0,25 – 0,50 (abertura longa)
Área polar grande	0,50 – 0,75 (abertura curta)
Área polar muito grande	>0,75 (abertura muito curta)

**Razão pólen/óvulo (P/O)**

Para estimar a razão pólen/óvulo (P/O) utilizou-se o método proposto por Cruden (1977), contabilizando-se a totalidade de polens encontrados numa antera e multiplicando o mesmo pela quantidade de anteras presente no botão floral, na sequência esse valor foi dividido pelo número de óvulos encontrados no botão floral.

Em cada botão floral, separou-se uma antera, sendo colocada sobre uma lâmina, cortada ao meio e macerada, em seguida foi colocada em tubinho de 1,5 mL em uma solução contendo: 840 µL de etanol 70%, 80 µL do corante azul de metileno e 80 µL de detergente, ajustando a uma solução de 1000 µL por tubo de 1,5 mL, totalizando assim 10 tubos de soluções. Em seguida, ocorreu o preparo de cinco lâminas por cada tubo de solução, adicionando-se em cada lâmina 1 µL da solução, cobrindo-a com uma lamínula e visualizando-a em microscópio binocular modelo Photonics Bio 2 LED da marca BEL em objetiva de 40x. Com o uso da técnica de varredura, contabilizou-se os polens encontrados na lâmina (DAFNI, 1992).

Com a média encontrada entre a razão P/O, realizou-se a inferência sobre o sistema reprodutivo de *B. cydoniifolia* baseado na classificação proposta por Cruden (1977), (Tabela 4).

**Tabela 4.** Sistema reprodutivo com base na razão pólen/óvulo conforme Cruden (1977).

<b>Sistema Reprodutivo</b>	<b>Razão pólen/óvulo</b>
Cleistogamia	2,7 – 5,4
Autogamia obrigatória	18,1 – 39,0
Autogamia facultativa	31,9 – 396,0
Xenogamia facultativa	244,7 – 2.588,0
Xenogamia obrigatória	2.108,0 – 195.525,0

### Índice meiótico

Para estimar o índice meiótico (IM) de *B. cydoniifolia* utilizou-se botões florais em fase de desenvolvimento, em cinco indivíduos dentro de cada população.

Para preparação das lâminas, as anteras foram removidas e levemente amassadas sobre a lâmina com uma gota de corante orceína 2% (RADFORD et al., 1974), conforme metodologia descrita por Guerra e Souza (2002). A observação das lâminas e contagem dos produtos pós-meióticos foi realizada em microscópio óptico binocular, modelo Photonics Bio 2 LED da marca BEL em objetiva de 40x.

Para contabilizar os produtos pós-meióticos, observou-se oito lâminas por indivíduo, contabilizando-se 250 células em cada lâmina, obtendo um total de 2.000 células por indivíduo. As células tétrades foram contabilizadas como normais e qualquer desvio (mônade, díade, tríade e poliade) foram consideradas como anormais, sendo o IM obtido através da fórmula abaixo (GUERRA E SOUZA, 2002).

$$IM = \frac{\text{N}^\circ \text{ de tétrades normais}}{\text{N}^\circ \text{ total de produtos pós-meióticos}} \times 100$$

### Viabilidade polínica via teste colorimétrico

Botões florais em fase de pré-antese foram utilizados para estimar a viabilidade polínica. Para visualização dos polens viáveis e inviáveis utilizou-se o corante Reativo de Alexander (ALEXANDER, 1969), o qual mostra a viabilidade com a presença na cor roxa do protoplasma.

As lâminas foram preparadas seguindo o método de esmagamento proposto por Guerra e Souza (2002) e sua observação foi realizada conforme descrito anteriormente para o índice meiótico. Foram preparadas oito lâminas por indivíduo, utilizando-se um botão floral em cada lâmina. Em cada lâmina foram contabilizados 250 grãos de polens (entre inviáveis e viáveis), totalizando-se 2.000 grãos de polens por indivíduo e 10.000 por população. A porcentagem de viabilidade polínica foi obtida através da fórmula abaixo (GUERRA E SOUZA, 2002).

$$VP\% = \frac{\text{N}^\circ \text{ de grãos de pólen viáveis}}{\text{N}^\circ \text{ total de grãos de pólen contados}} \times 100$$

### Citoquímica polínica

Os polens de *B. cydoniifolia*, tiveram a submissão com o corante Lugol a 1% (BAKER; BAKER, 1979) e Sudan IV a 2% (DAFNI, 1992) com o intuito de observar a presença de amidos e lipídios, respectivamente. O lugol é específico para coloração de grãos de pólen que contenham amido como material de reserva, corando-os de marrom escuro ou preto, essa técnica tem base nas reações químicas ocorridas com o iodo e o amido (PEÑALOZA et al.,

2005). Já o corante Sudan IV, tem reação com moléculas de lipídios, onde os lipídios positivos são os polens corados na cor vermelha ou marrom claro (DAFNI, 1992).

Para avaliação da análise acima, foram utilizados um mix de botões florais dos cinco indivíduos coletados para cada população. Foram preparadas oito lâminas por população, conforme a metodologia descrita por Guerra e Souza (2002) e contabilizou-se 250 grãos de pólen por lâmina e 2.000 polens por população. A observação e a contagem dos grãos de pólen foi realizada em microscópio óptico binocular, modelo Photonics Bio 2 LED da marca BEL em objetiva de 40x. Os dados obtidos foram transformados em porcentagem de polens amido positivos e lipídios positivos, dividindo-se o número de polens corados pelo número total de polens contados e multiplicando por 100.

### **Análises Estatística**

Para realizar a caracterização da morfologia do pólen, utilizou-se o software Genes (CRUZ, 2016) com a estatística descritiva, obtendo-se: desvio padrão da média, média, intervalo de confiança e coeficiente de variação. Do mesmo modo, procedeu-se para o índice meiótico e viabilidade polínica, encontrando através da estatística descritiva no software Genes (CRUZ, 2016), os valores máximo, mínimo, média, desvio padrão, variação e intervalo de confiança.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Caracterização morfológica do pólen**

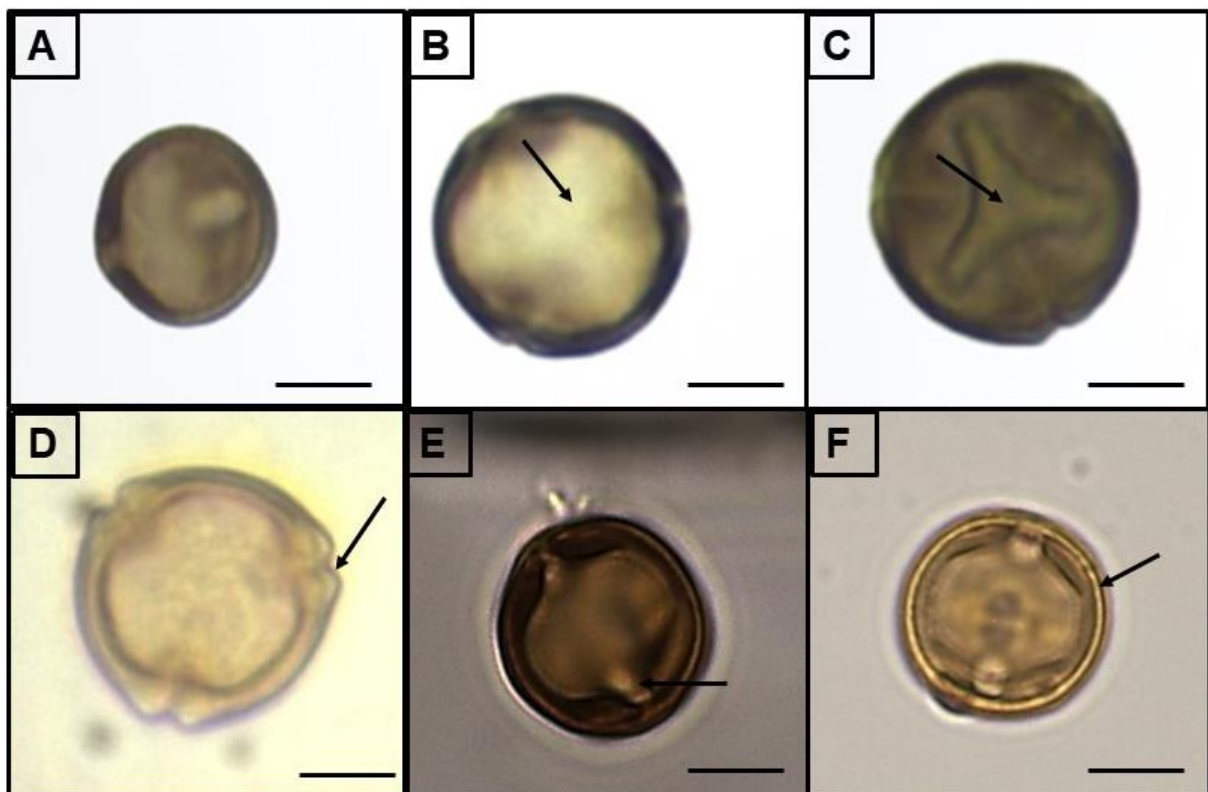
Os resultados das análises morfopolínicas permitiram caracterizar os grãos de pólen de *B. cydoniifolia* como 3-colporados, apresentando tamanhos entre 16 a 25  $\mu\text{m}$  de diâmetro equatorial e 19 a 26  $\mu\text{m}$  de eixo polar (Tabela 5). Os polens são considerados pequenos, pois a média do maior eixo (eixo polar) encontra-se entre 10 – 25  $\mu\text{m}$ , conforme classificação proposta por Erdtman (1945). De acordo com a metodologia proposta por Erdtman (1952), os polens foram classificados como Prolato-esferoidal (subesferoidal), com área polar grande (Tabela 5). A exina de *B. cydoniifolia* indicou uma média de 1,70  $\mu\text{m}$  apresentando sua região na área polar como microrreticulada. O maior destaque entre as médias foi para o eixo polar 23,04  $\mu\text{m}$  e o maior intervalo de confiança também para o eixo polar (Tabela 5).

**Tabela 5.** Medidas dos polens de *Byrsonima cydoniifolia* coletados nas populações: Barra do Garças, Araguaiana-I, Araguaiana-II e Cocalinho, submetidos ao método de acetólise.

Medida	Mín. - Máx. ( $\mu\text{m}$ )	$\bar{x} \pm \text{sx}$ ( $\mu\text{m}$ )	IC 95% ( $\mu\text{m}$ )	CV (%)
Diâmetro equatorial (VE)	16,00 – 25,00	22,16 $\pm$ 1,99	21,27 – 22,96	8,00
Eixo polar (VE)	19,00 – 26,00	23,04 $\pm$ 1,51	22,37 – 23,65	6,57
Diâmetro equatorial (VP)	18,00 – 24,00	20,68 $\pm$ 2,10	19,75 – 21,52	10,14
Apocolpo	14,00 – 22,00	17,36 $\pm$ 2,52	16,24 – 18,37	14,49
Exina	1,10 – 2,50	1,70 $\pm$ 0,36	1,54 – 1,08	21,26
P/E	0,96 – 1,19	1,04 $\pm$ 0,06	1,02 - 1,07	5,67
I.A.P	0,70 – 1,05	0,83 $\pm$ 0,07	0,81 - 0,87	8,58

$\bar{x}$  = média;  $\text{sx}$  = desvio padrão da média; IC = intervalo de confiança; CV (%) = coeficiente de variação; VE = Vista Equatorial; VP = Vista Polar; P/E = Razão entre eixo polar sobre diâmetro equatorial; I.A.P.= Índice de área polar.

Em relação ao coeficiente de variação, a exina apresentou uma variabilidade de 21,26%, sendo a maior entre as medidas. Santos et al. (2020) desenvolvendo estudos com a morfologia do pólen de *Byrsonima crassifolia*, no Município de Alta Floresta, estado de Mato Grosso, encontraram resultados similares ao diâmetro equatorial, eixo polar, tamanho do pólen, índice de área polar, coeficiente de variação e outros caracteres. Sousa et al. (2021) identificando e analisando a morfologia polínica na espécie *Byrsonima basiloba* A. Juss, no parque da cidade de Santarém, Estado do Pará, encontraram resultados que se assemelham a este estudo, como os grãos de pólen 3-colporados e variação da exina de reticulada a microrreticulada.



**Figura 4.** Polens de *Byrsonima cydoniifolia*: A) Vista polar com simetria radial. B) Vista polar com âmbito circular

e detalhes na superfície (ornamentação - seta). C) Vista equatorial com âmbito triangular (seta). D) Vista equatorial com detalhes na superfície e abertura dos colpos (ornamentação - seta). E) Vista equatorial mostrando os colpos (seta). F) Vista equatorial com exina em destaque (seta). Barra = 20µm.

A visualização dos polens de *B. cydoniifolia* indicaram aberturas nos colpos, sendo estas em números de duas ou três, possuindo também uma endoabertura circular lalongada (alongada transversalmente), chamada de poro, denominando-se os grãos de polens tricolporados, área polar com detalhes ornamentais e exina microrreticulada em destaque (Figura 4). Salgado-Labouriau (1973) estudando os diferentes tipos de pólen em espécies nativas do cerrado pertencentes a família Solanaceae, encontraram características que se assemelham ao presente estudo. Santos et al. (2020) pesquisando as características morfológicas do pólen de *Byrsonima crassifolia* em populações cultivadas dentro do Município de Alta Floresta, região oeste de Mato Grosso, encontraram características semelhantes a vista equatorial e polar com detalhes nos colpos e aberturas dos grãos de pólen.

#### **Razão pólen/óvulo (P/O)**

Conforme classificação proposta por Cruden (1977), a razão pólen/óvulo de *B. cydoniifolia* obtida foi de 53.653,33, o que classifica a espécie em um sistema reprodutivo de xenogamia obrigatória. Bezerra et al. (2009) realizando estudos com a biologia reprodutiva de *Byrsonima gardnerana*, em área de caatinga localizada na reserva nacional do Catimbau, região do Agreste de Pernambuco, encontraram valores equivalentes a 13.832 para a razão pólen/óvulo da espécie, com sistema reprodutivo xenogâmico obrigatório. Santos et al. (2020) desenvolvendo estudos sobre o sistema reprodutivo de populações cultivadas da espécie *Byrsonima crassifolia*, na área urbana da cidade de Alta Floresta, Mato Grosso, encontraram resultados similares no valor de 28.979,99 para a razão pólen/óvulo com o sistema reprodutivo xenogâmico obrigatório. A razão P/O, é uma técnica alternativa, precisa, hábil e de baixo custo, e, em comparação a técnicas de marcadores moleculares ou técnicas de cruzamentos está tornar-se uma ferramenta eficiente na avaliação de sistemas reprodutivos nos vegetais em geral (CRUDEN, 2000).

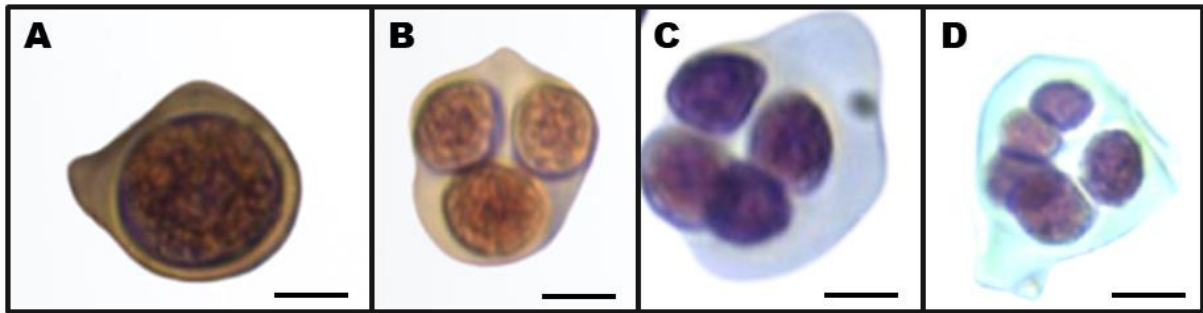
#### **Índice meiótico**

O índice meiótico (IM) das quatro populações em estudo, variou entre os indivíduos dentro de cada população, apresentando-se superior a 95%, indicando baixos níveis de irregularidades meióticas para a espécie (Tabela 6).

**Tabela 6.** Produtos pós-meióticos e índice meiótico (IM) observados em indivíduos de *Byrsonima cydoniifolia* coletados em: Barra do Garças, Araguaiana-I, Araguaiana-II e Cocalinho.

Indivíduos	Tétrades	Mônode	Díades	Tríades	Políades	IM(%)
<b>Barra do Garças</b>						
1	1.980	8	4	8	0	99
2	1.986	3	6	5	0	99,30
3	1.977	22	1	0	0	98,85
4	2.000	0	0	0	0	100
5	1.985	3	2	10	0	99,25
Total	9.928	36	13	23	0	10.000
Média	1.985,60	7,2	2,6	4,6	0	99,28
<b>Araguaiana-I</b>						
1	1.993	1	1	5	0	99,65
2	1.980	2	2	11	5	99
3	1.983	4	4	9	0	99,15
4	1.998	0	0	1	1	99,90
5	1.994	0	0	6	0	99,70
Total	9.948	7	7	32	6	10.000
Média	1.989,60	1,4	1,4	6,4	1,2	99,48
<b>Araguaiana-II</b>						
1	1.979	6	0	15	0	98,95
2	1.910	0	0	90	0	95,50
3	1.925	0	0	75	0	96,25
4	1.974	3	0	23	0	98,70
5	1.966	2	4	28	0	98,30
Total	9.754	11	4	231	0	10.000
Média	1.950,80	2,2	0,8	46,2	0	97,54
<b>Cocalinho</b>						
1	1.984	0	0	16	0	99,20
2	1.990	0	0	10	0	99,50
3	1.975	0	0	25	0	98,75
4	1.981	0	0	19	0	99,05
5	1.985	0	0	15	0	99,25
Total	9.915	0	0	85	0	10.000
Média	1.983,0	0	0	17	0	99,15

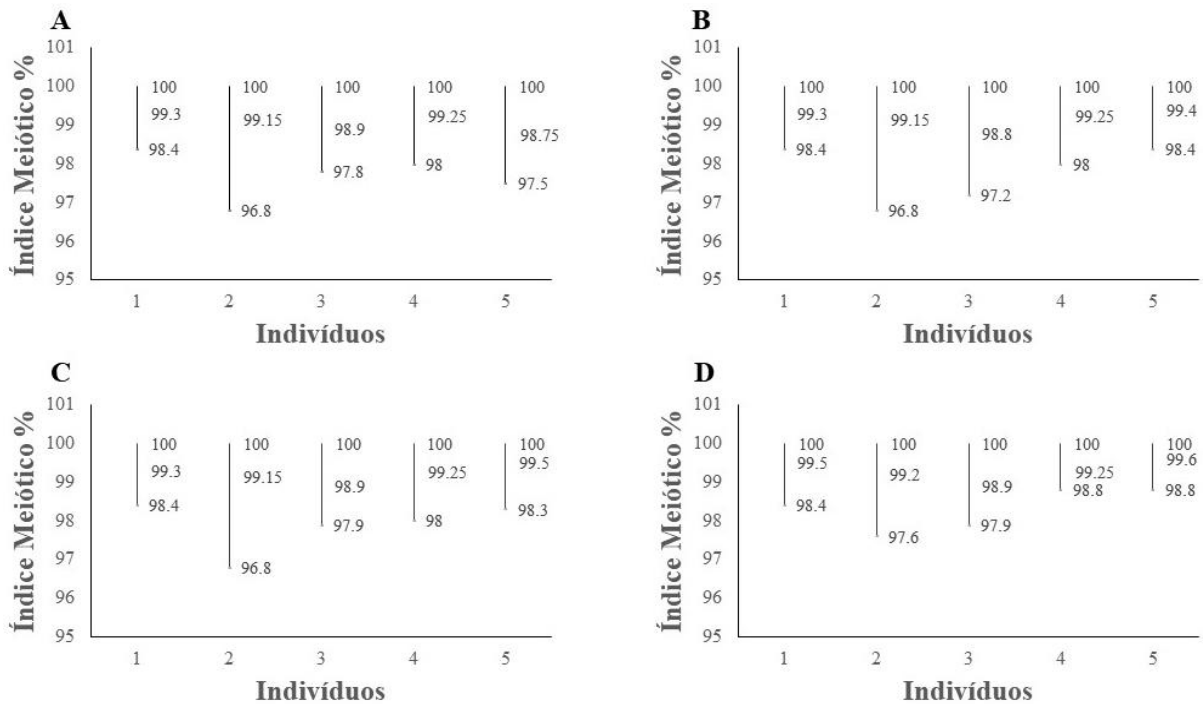
Na análise dos produtos pós-meióticos de *B. cydoniifolia*, observou-se a presença de células: mônades, díades, tríades, tétrades normais e políades, onde as irregularidades de células tríades teve uma maior frequência para a população de Araguaiana-II com 231 células e na população de Cocalinho teve presença de 85 células tríades e ausência das células mônades, díades e políades (Tabela 6 e Figura 5).



**Figura 5.** Produtos pós-meióticos observados em *Byrsonima cydoniifolia*. A) Mônade. B) Triade. C) Tétrade normal. D) Políade. Barra = 15µm.

O índice meiótico em todas as populações em estudo, mostrou-se alto para todos os indivíduos de *B. cydoniifolia*. Santos et al. (2020) desenvolvendo pesquisas sobre os produtos pós-meióticos para a espécie *Byrsonima crassifolia*, no Município de Alta Floresta, Estado de Mato Grosso, encontraram índice meiótico superior a 95%, baixos níveis de irregularidades meióticas e maior presença de células tríades anormais. De acordo com Love (1951), plantas que apresentam IM superior a 90% possuem alta estabilidade meiótica. As anormalidades detectadas nos produtos pós-meióticos do presente estudo, pode estar ligado a erros durante a meiose, como: irregularidade na orientação das fibras do fuso (SOUZA et al., 2014) e alinhamento incorreto dos cromossomos nas metáfases I e II (SHAMINA, 2005).

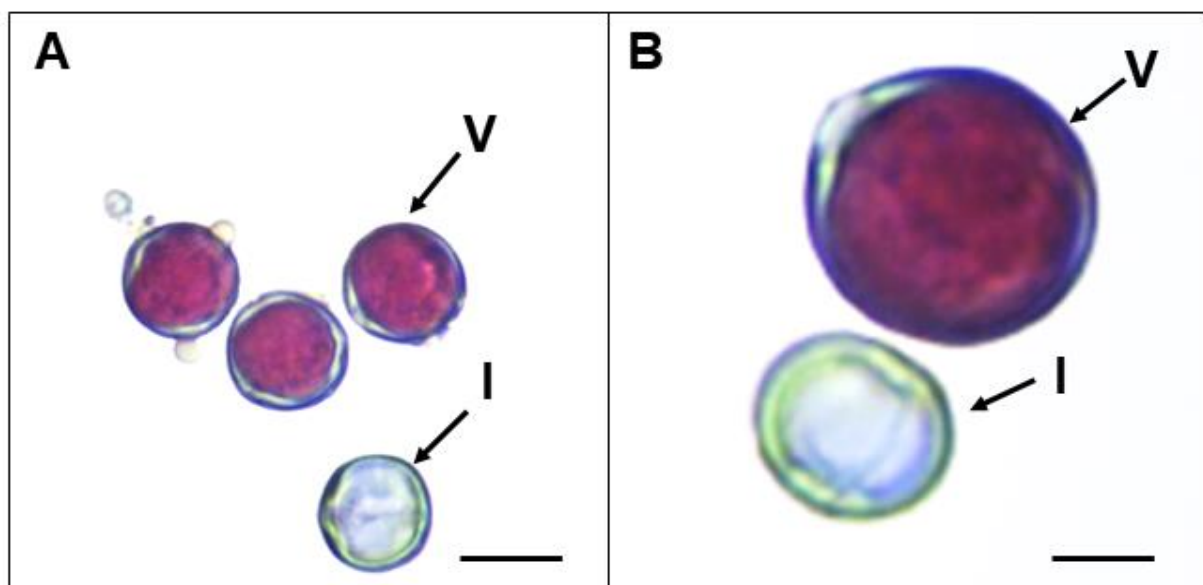
O maior intervalo de confiança foi encontrado no indivíduo 2 das quatro populações e os menores intervalos de confiança está no indivíduo 1 das populações de Barra do Garças, Araguaiana-I e Araguaiana-II e na população de Cocalinho está nos indivíduos 4 e 5 (Figura 6). Souza et al. (2016) pesquisando a morfologia e viabilidade dos grãos de pólen de *Theobroma subincanum*, no município de Alta Floresta, Estado de Mato Grosso, utilizando o corante reativo de Alexander, encontraram resultados com intervalos de confiança, que se assemelham a espécie em estudo.



**Figura 6.** Intervalos de confiança dos resultados do índice meiótico de *Byrsonima cydoniifolia* estimado nas quatro populações com os cinco indivíduos: A) População de Barra do Garças; B) População de Araguaiana-I; C) População de Araguaiana-II e D) População de Cocalinho.

### Viabilidade polínica via teste colorimétrico

O teste colorimétrico de viabilidade polínica, utilizando o corante reativo Alexander, distinguiu com muita eficiência os grãos de pólen inviáveis e viáveis de *B. cydoniifolia* (Figura 7), possibilitando o mesmo uma avaliação integral dos elementos constituintes celulares no núcleo e parede celular (PEÑALOZA et al., 2005)

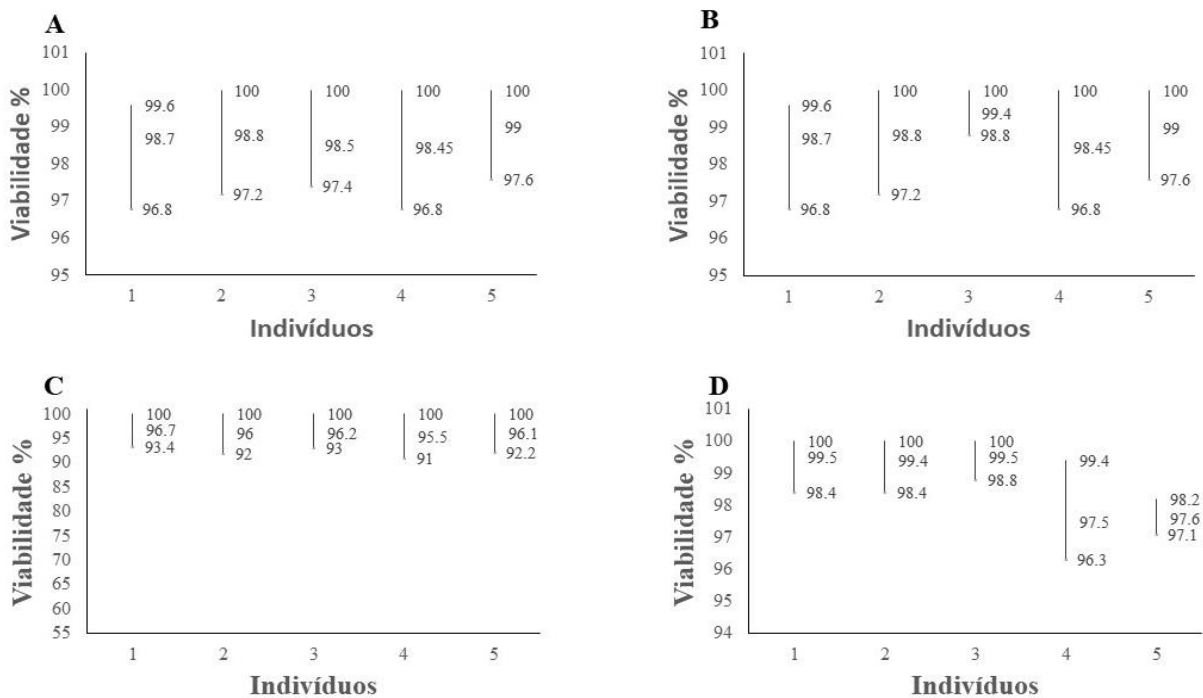


**Figura 7.** Padrão de coloração dos grãos de pólen de *Byrsonima cydoniifolia* com reativo de Alexander. A) Grãos de pólen vistos na objetiva de 40x (Barra: 50µm). B) Grãos de pólen vistos em aumento de 400x (Barra: 100µm). V = grão de pólen viável; I = grão de pólen inviável.

A estimativa da taxa de viabilidade polínica da espécie em estudo, foi superior a 90%. Nascimento Junior et al. (2023) em estudos sobre a fenologia e biologia floral das espécies: *Byrsonima gardneriana*, *Byrsonima verbascifolia* e *Byrsonima coccolobifolia*, em regiões remanescente com vegetação de caatinga, Estado da Bahia, descrevem uma viabilidade polínica similar e estimada em: 95,45%, 94,50% e 99,35%. Santos et al. (2020) estudando a espécie *Byrsonima crassifolia*, no município de Alta Floresta, estado de Mato Grosso, descrevem uma estimativa de 93,6% de viabilidade polínica.

O corante reativo de Alexander em sua reação, tem interação no protoplasma e na parede celular dos grãos de pólen, estabelecendo uma coloração púrpura quando o pólen for viável e verde quando inviáveis (ALEXANDER, 1980). A viabilidade polínica pode ser influenciada por fatores que determinam a forma pela qual o pólen chega ao estigma da flor, se viável e com capacidade de germinar. Esses fatores podem ser: ambientais locais (umidade e temperatura), nível de desidratação e conteúdo de reserva dos grãos de pólen (PACINI e FRANCHI, 1993; DAFNI e FIRMAGE, 2000).

Dentre as populações em estudo, a população de Barra do Garças, foi a que obteve os maiores intervalos de confiança entre todos os indivíduos. Já a população da Araguaiana-II, indicou os menores intervalos de confiança em seus indivíduos e a população de Cocalinho destacou o indivíduo 4 com maior intervalo de confiança.

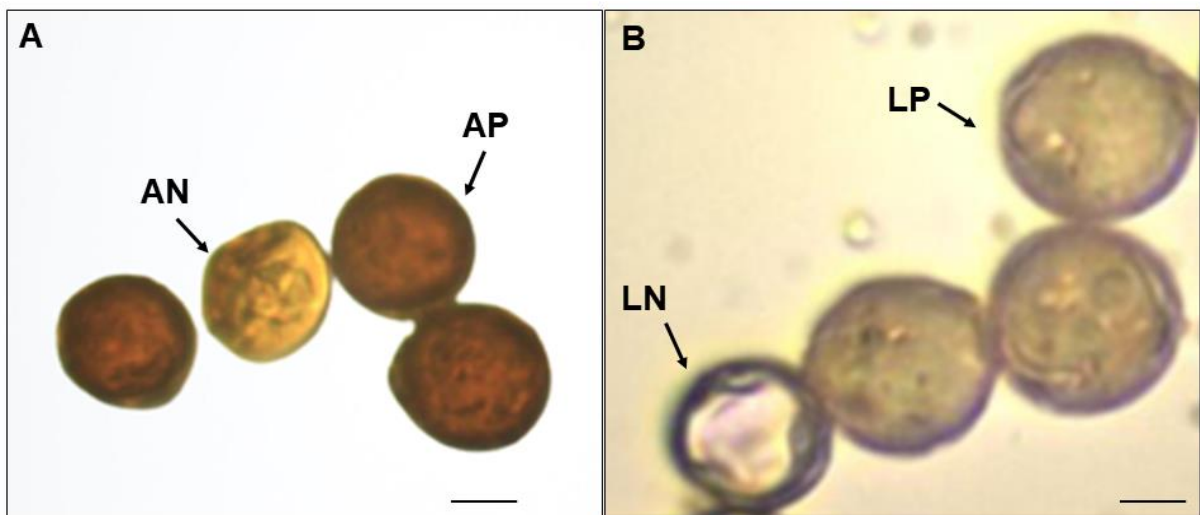


**Figura 8.** Intervalos de confiança dos resultados de viabilidade polínica de *Byrsonima cydoniifolia* estimado nas quatro populações com os cinco indivíduos: A) População de Barra do Garças; B) População de Araguaiana-I; C) População de Araguaiana-II e D) População de Cocalinho.

A viabilidade polínica de *B. cydoniifolia*, estimada foi considerada alta e reflete nos resultados do índice meiótico. Conforme Souza et al. (2002), viabilidade estimadas com valores superior a 70% podem ser consideradas altas, isso indica eficiência no processo de fertilização da espécie.

### Citoquímica

Os grãos de pólen de *B. cydoniifolia* apresentaram amidos e lipídios como substâncias de reserva, as reações foram realizadas com os corantes lugol e sudan IV, respectivamente. A população de Barra do Garças apresentou 98,55% dos grãos de pólen com amido positivos e 99,40% de lipídios positivos. Na população de Araguaiana-I os resultados foram de 98,85% de pólen com amido positivos e 99,25% de lipídios positivos. A população de Araguaiana-II mostrou 99,05% de pólen com amido positivos e 99,70% de lipídios positivos e na população de Cocalinho os valores foram de 99,00% de grãos de amido positivos e 99,55% de lipídios positivos.



**Figura 9.** Padrão de coloração de grãos de pólen de *Byrsonima cydoniifolia* para análise citoquímica. A) Grãos de pólen corados com lugol. B) Grãos de pólen corados com Sudan IV. AP: amido positivo; AN: amido negativo; LP: lipídeo positivo; LN: lipídeo negativo. Barra = 50µm.

Os corantes Sudan IV e Lugol (BAKER; BAKER, 1979; DAFNI, 1992) mostraram que os grãos de pólen de *B. cydoniifolia* possuem amidos e lipídios como substâncias de reserva, onde a população de Araguaiana-II apresentou os maiores percentuais de amidos e lipídios positivos. Estudos desenvolvidos com o gênero *Byrsonima*, sobre aspectos reprodutivos utilizando testes citoquímicos, não foram encontrados na literatura, todavia pesquisas realizadas com o gênero *Croton*, por Ferreira et al. (2022), sobre a viabilidade, morfologia, índice meiótico e citoquímica polínica da espécie Sangra d'água, no município de Alta Floresta, Estado de Mato Grosso, através de testes citoquímicos, descrevem valores de 98,75% de grãos de pólen com

presença de amido positivo com o corante lugol e 99,46% de lipídios positivos utilizando o corante Sudan IV.

Substâncias de amidos presentes como reserva nos grãos de pólen, são de suma importância, pois essas podem ter uma relação na manutenção da viabilidade, uma vez que, essa molécula tem a possibilidade de sua conversão total ou parcial em frutose, glicose, pectinas e sacarose; podendo aumentar a resistência dos mesmos em locais hostis, auxiliando na germinação do tubo polínico (PACINI et al., 2006). Da mesma forma, os lipídios tem sua importância na fertilização das plantas, onde a presença destes pode estar relacionada a uma garantia das adesões entre a antera, grãos de pólen e estigma, além disso, fornecem uma proteção contra a perda de água e radiação UV, mantendo-os juntos durante o transporte (PACINI; HESSE 2005).

## CONCLUSÕES

Os grãos de pólen coletados nas populações apresentaram características como: pequenos, 3-colporados, prolato-esferoidal e área polar grande. A superfície do pólen possui reentrâncias e a exina apresenta sua região na área polar como microrreticulada.

*B. cydoniifolia* possui alta estabilidade e regularidade meiótica pois apresentou alto índice meiótico e viabilidade polínica eficiente obtida pelos testes colorimétricos.

Os grãos de pólen de *B. cydoniifolia* apresentam amido e lipídios como material de reserva.

As informações obtidas neste estudo, mostrou que a espécie é potencialmente fértil e capacitada para ser empregada em programas de reflorestamento e melhoramento genético.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, T. V.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; AZEVEDO, A. A.; FERREIRA, R. S. Anati Quanti: Software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. **Planta Daninha**, v. 25, n. 4, p. 649-659, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582007000400001>

ALVES, E. D. L.; PRADO, M. F.; SPECIAN, V. Análise da variabilidade climática da precipitação pluvial em Barra do Garças, Mato Grosso. **Brazilian Geographical Journal : Geosciences and Humanities research medium**, Uberlândia, v. 2, n. 2, p. 512-523, 2011. Disponível: [file:///C:/Users/borke/Downloads/admin,+16+BGJournal%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/borke/Downloads/admin,+16+BGJournal%20(3).pdf)

ALEXANDER, M. P. A versatile stain for pollen fungi, yeast and bacteria. **Stain Technology**, v. 55, n. 1, p. 13-18, 1980. Doi: <https://doi.org/10.3109/10520298009067890>

ALEXANDER, M. P. Differential staining of aborted and non aborted pollen. **Stain**

- Technology**, v. 44, n. 3, p. 117-122, 1969. Doi: <https://doi.org/10.3109/10520296909063335>
- AVILA JÚNIOR, R. S.; URDAMPILLETA, J.; GIL, A. B. Qualidade polínica, anormalidades meióticas e poliploidia em *Sisyrinchium commutatum* (Iridaceae). **Rodriguésia**, v. 66, p. 923-929, 2015. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201566320>
- BAKER, H. G.; BAKER, I. Starch in angiosperm pollen grains and its evolutionary significance. **American Journal of Botany**, v. 66, n. 5, p. 591-600, 1979. DOI: 10.2307/2442509
- BARTH, O. M. Catálogo sistemático dos polens das plantas arbóreas do Brasil Meridional – Glossário Palinológico. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 63, p. 133-162, 1965. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761965000100012>.
- BARTIMACHI, A.; NEVES, J.; PEDRONI, F. Predação pós-dispersão de sementes do angico *Anadenanthera falcata* (Benth.) Speg. (Leguminosae-Mimosoideae) em mata de galeria em Barra do Garças, MT. **Brazilian Journal of Botany**. V. 31, n. 2, p. 215-225, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042008000200004>
- BEZERRA, E. S.; LOPES, A. V.; MACHADO, I. C. Biologia reprodutiva de *Byrsonima gardnerana* A. Juss. (Malpighiaceae) e interações com abelhas Centris (Centridini) no Nordeste do Brasil. **Brazilian Journal of Botany**. V. 32, n. 1, p.071-084, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042009000100010>
- BLACKMORE, S. Pollen and spores: Microscopic keys to understanding the earth's biodiversity. **Plant Systematics and Evolution**, v. 263, n. 3, p. 3-12, 2007. DOI: 10.1007/s00606-006-0464-3
- CRUDEN, R. W. Pollen-ovulo ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. **Evolution**, v. 31, n. 1, p. 32-46, 1977. <https://doi.org/10.2307/2407542>
- CRUDEN, R. W. Pollen grains: why so many? **Plant Systematics and Evolution**, v.222, n.1-4, p.143-65, 2000.
- CRUZ, C. D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016. DOI: 10.4025/actasciagronv38i4.32629.
- DAFNI, A.; FIRMAGE, D. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. **Plant Systematics and Evolution**, v. 222, p. 113-132, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00984098>
- DAFNI, A. **Pollination ecology: a practical approach**. New York: Oxford University Press, 1992. 250p. Disponível: <file:///C:/Users/borke/Downloads/book-PollinationEcology-APracticalApproachA.dafni55optimized.pdf>
- ERDTMAN, G. An introduction to pollen analysis. **Companhia Chronica Botanica, Waltham** 1239,p.240,1943.Disponível:[https://www.scirp.org/\(S\(i43dyn45teexjx455qlt3d2q\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1823385](https://www.scirp.org/(S(i43dyn45teexjx455qlt3d2q))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1823385)
- ERDTMAN, G. Pollen morphology and plant taxonomy. III. *Morina* L. with na addition on

pollenmorphological terminology. **Svensk Botanisk Tidskr**, v. 39, p. 279-285, 1945. Disponível: <https://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:1202179/FULLTEXT01.pdf>

ERDTMAN, G. Pollen morphology and plant taxonomy Angiosperms. **Almqvist e Wiksell, Stockholm**, 539p. 1952. Disponível: [https://www.scirp.org/\(S\(lz5mqp453edsnp55rrgjt55\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1493124](https://www.scirp.org/(S(lz5mqp453edsnp55rrgjt55))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1493124)

FERREIRA, E. L.; CARDOSO, E. Dos S.; PAIVA, G. A. De.; ROVEDA, A. P.; MÜLLER ZORTÉA, K. Evelin.; CORBULIN, T. De S.; CORDEIRO, A. G. M.; ROSSI, A. A. B. Morphology, viability, meiotic index and pollen cytochemistry of sangra d'água (*Croton urucurana* Baill). **Research, Society and Development**, [S. L.], v. 11, n. 15, p. E302111537066, 2022. Doi: 10.33448/rsd-v11i15.37066.

FRIZON, P.; BRAMMER, S. P.; DEUNER, C. C.; CHECHI, A.; LIMA, M. I. P. M.; SCHEEREN, P.L. Genetic stability in interspecific hybridizations of wheat populations determined by meiotic index and pollen viability. **Biotemas**, 34 (2): 1-9, 2021. <http://dx.doi.org/10.5007/2175-7925.2021.e79666>

GUERRA, M.; SOUZA, M.J. **Como observar cromossomos**: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto, SP: FUNPEC, 2002, 131p.

LOVE, R. M. Varietal differences in meiotic chromosomes behavior of Brazilian wheats. **Agronomy Journal**, v. 43, n. 2, p. 72-76. 1951. <https://doi.org/10.2134/agronj1951.000219622004300020005x>

LUZ, C. L. S.; MITCHELL, J. D.; DALY, D.; BITENCOURT, C.; PIERRE, P. M. O.; PELL, S.; PIRANI, J. Hidden Species of Anacardiaceae in the Andean Cloud Forests: A Revision of *Schinus* section *Myrtifolia*. **Systematic Botany**, 47(4): pp. 1031–1064, 2022. Doi 10.1600/036364422X16674053033822

LUZ, C. F. P.; BARROS, M. A.; BARTH, O. M. Morfologia polínica de eudicotiledôneas arbóreas da Serra da Capoeira Grande, Maciço Geológico da Pedra Branca, Rio de Janeiro, Brasil. **Iheringia**, v. 73, n. 3, p. 308-328, 2018. Doi: 10.21826/2446-8231201873308

MENEZES FILHO, A. C. P. . Características da conservação, química, fitoterapêutica, bioativa e alimentar de *Byrsonima verbascifolia* Rich. Ex. A. Juss. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, 9(1), 118–130, 2021. <https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n1.pereiramenezes>

NASCIMENTO, L. S.; BENEVENUTI, A. S.; LEITE, D. M.; SILVA, M. D. D.; MIRANDA, D.; MELLO, V.; DAHMER, N.; KARSBURG, I. V.. Estimativa da viabilidade polínica e índice meiótico de *Delonix regia*. **Estudos**, Goiânia, v.41, n.1, p.83-88, 2014. Disponível em: <file:///C:/Users/borke/Downloads/seer,+3854-11129-1-CE.pdf>

NASCIMENTO JÚNIOR, J. M.; GAMA, D. C.; LIMA, L. C. L.; OLIVEIRA, V. S.; CONCEIÇÃO, E. S. Fenologia e biologia floral de espécies de *Byrsonima* Rich. Ex Kunth em área de caatinga na Bahia, Brasil. **Scientia Plena**. V. 19, n. 07. 2023. Doi: 10.14808/sci.plena.2023.070201

PACINI, E.; FRANCHI, G. G. Role of the tapetum in pollen and spore dispersal. *In*: Hesse M., Pacini E., Willemse M. (eds). **The Tapetum**. V. 7. Vienna: Springer, 1993. Doi: 10.1007/978-

3-7091-6661-1\_1

PACINI, E. HESSE M. POLLENKITT – its composition and functions. **Flora**. Aschaffenburg, v. 200, edição 5 e 6, p. 399-415, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2005.02.006>

PACINI, E.; GUARNIERI, M.; NEPI, M. Pollen carbohydrates and water content during development, presentation, and dispersal: a short review. **Protoplasma**, v. 228, p. 73-77, 2006. Doi 10.1007/s00709-006-0169-z

PEÑALOZA, A. II Curso de citogenética aplicada a recursos genéticos vegetais. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, Distrito Federal, 2005. Disponível: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/186933/1/doc154.pdf>

POSSOBOM, C. C. F.; CANAVEZE, I.; RAMOS, S. M. B. Aspectos botânicos da rosa-do-deserto. Cultivo e Manejo da Rosa-do-Deserto. São José dos Pinhais: **Revistas Brasileiras**, p. 1039, 2021. Disponível: <file:///C:/Users/borke/Downloads/Aspectos%20bot%C3%A2nicos%20da%20rosa-do-deserto.pdf>

PUNT, W.; BLACKMORE, S.; NILSSON, S.; LE THOMAS, A. Glossary of pollen and spore terminology. **Review of Palaeobotany and Palynology**, v. 143, n. 1-2, p. 1- 81, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.revpalbo.2006.06.008>

RADFORD, A. E.; DICKISON, W. D.; MASSEY, J. R.; BELL, C. R. **Vascular plant systematics**. New York: HarpereRow, 1974. Disponível: [https://www.scrip.org/\(S\(351jmbntvnsjt1aadkozje\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1413457](https://www.scrip.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkozje))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1413457)

REIS, R. P.; KIRSCH, G. H. A importância da polinização. **Caderno Meio Ambiente e Sustentabilidade**. V. 9, n. 16 – 2020. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1991.11099101>

SALGADO-LABOURIAU, M. L. Contribuição à palinologia dos cerrados. Rio de Janeiro: Clip Produções Gráficas e Jornalísticas, **academia brasileira de ciências**, p. 273, 1973. Disponível: [https://mw.eco.br/ig/ProdCient/TextoIntegral/SalgadoLabouriau1973\\_.htm](https://mw.eco.br/ig/ProdCient/TextoIntegral/SalgadoLabouriau1973_.htm)

SANTOS, J. F. L.; ROSSI, A. A. B.; PENA, G. P.; TIAGO, A. V.; ZORTÉA, K. E.; CARDOSO, E. S.; PEDRI, E. C. M.; SANTOS, I. C. B.; SANTOS, D. B.; SANTOS, I. R. B. Morfologia, viabilidade polínica e índice meiótico de *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n.6, p.37514-37536 jun. 2020. Doi:10.34117/bjdv6n6-328

SANTOS, J. V. D.; AMORIM, A. M.; CONCEIÇÃO, A. S.; Malpighiaceae in the Raso da Catarina Ecoregion, Bahia, Brazil. **Biota Neotrop**. 18 (3), 20170429, 2018. Doi:10.1590/1676-0611-BN-2017-0429

SHAMINA, N. V. A catalogue of abnormalities in the division spindles of higher plants. **Cell Biology International**, v. 29, n. 5, p. 384-391, 2005. Doi: 10.1016/j.cellbi.2005.02.004.

SOUSA, L. C. F.; ARAÚJO, N. M.; SOUSA, L. F.; LIRA, A. G. S.; ABREU, V. H. R. Morfologia polínica e visitantes florais de duas espécies simpátricas de Malpighiaceae Juss. No Parque da Cidade em Santarém, Pará. **Paubrasilia**, Porto Seguro, v. 4, p. 0057, 2021. <https://doi.org/10.33447/paubrasilia.2021.e0057>.

SOUZA, M. M.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa* Degener). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 6, p. 1209-1217, 2002. Disponível: [https://www.researchgate.net/publication/290161806\\_Microsporogenese\\_e\\_microgametogene\\_se\\_associadas\\_ao\\_tamanho\\_do\\_botao\\_floral\\_e\\_da\\_anta\\_e\\_viabilidade\\_polinica\\_em\\_maracujazeiro-amarelo\\_Passiflora\\_edulis\\_Sims\\_f\\_flavicarpa\\_Degener](https://www.researchgate.net/publication/290161806_Microsporogenese_e_microgametogene_se_associadas_ao_tamanho_do_botao_floral_e_da_anta_e_viabilidade_polinica_em_maracujazeiro-amarelo_Passiflora_edulis_Sims_f_flavicarpa_Degener)

SOUZA, M. D. A.; SILVEIRA, G. F.; SILVA, M. A. S.; KARSBURG, I. V. Estimativa da viabilidade polínica em indivíduos de *Tabebuia impetiginosa* e *Tabebuia crysotricha* (Mart. Ex. DC.) Standl. (Bignoniaceae) através de métodos citoquímicos. Enciclopédia Biosfera, **Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.10, n.18, p.3864, 2014. Disponível: <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2014a/MULTIDISCIPLINAR/estimativa.pdf>

SOUZA, M. M.; PEREIRA, T. N. S.; VIANA, A. P.; PEREIRA, M. G.; BERNACCI, L. C.; SUDRÉ, C. P.; SILVA, L. C. Meiotic irregularities and pollen viability in *Passiflora edmundoi* Sacco (Passifloraceae). **Caryologia**, v. 56, n. 2, p. 161-169, 2014. Doi: 10.1080/00087114.2003.1010589320

SOUZA, M. D. A.; ROSSI, A. A. B.; VARELLA, T. L.; SILVEIRA, G. F.; SOUZA, S. A. M. Stigmatic receptivity and pollen viability of *Theobroma subincanum* Mart. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 38, n. 4: (e-757), 2016. Doi 10.1590/0100-29452016757

SOUZA, C. G.; RAMOS, S. M. B.; NIETSCHKE, S.; POSSOBOM, C. C. F.; ALMEIDA, E. F. A.; PEREIRA, M. C. T. Viability of pollen grains and stigma receptivity in Desert Rose. **Ornamental horticulture**, Viçosa, V. 28, No. 1, p. 92-98, 2022. <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v28i1.2402>

TALLEDO, B. G.; ZAMBRANO, A. B.; CRUZATTY, L. G.; GAVILANES, F. Z. Morphology, viability, and longevity of pollen of National Type and Trinitarian (CCN-51) clones of cocoa (*Theobroma cacao* L.) on the Coast of Ecuador. **Brazilian Journal of Botany**, v. 42, n. 3, p. 441-448, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1007/s40415-019-00541-2>

### 4.3 CAPÍTULO III

#### DIVERGÊNCIA GENÉTICA E CORRELAÇÃO ENTRE CARACTERES DE MURICIZEIROS NATIVOS DA REGIÃO LESTE DO ESTADO DE MATO GROSSO, BRASIL

##### RESUMO

A elevada diversidade de frutas tropicais brasileiras, entre elas o murici e a escassez de informações sobre esta e outras espécies frutíferas, tem estimulado pesquisas sobre técnicas na obtenção de produtividade e inserção das mesmas no agronegócio regional e nacional. O estudo objetivou analisar a divergência genética e a correlação entre os caracteres existente nos indivíduos de muricizeiros nativos da região leste do estado de Mato Grosso, por meio de técnicas de análise multivariada. Frutos maduros foram coletados de 40 indivíduos diferentes em quatro áreas de ocorrência natural da espécie, durante a safra de janeiro de 2022, selecionando 10 plantas dentro de cada área de estudo, caracterizando uma população, onde foram coletados 10 frutos em cada indivíduo, totalizando 100 frutos por população. As variáveis analisadas: comprimento, largura, espessura, massa do fruto, massa da casca e volume dos frutos; comprimento, largura, espessura e massa das sementes, espessura e massa da polpa, índice de volume das sementes (IVS) e °brix. As análises multivariadas foram realizadas com os métodos UPGMA e otimização de Tocher, componentes principais e contribuição relativa. Cinco grupos distintos foram formado com base no método UPGMA e sete grupos no Tocher e dispersão gráfica. A estimativa de correlações lineares, revelou fortes correlações positivas e negativas evidenciando frutos com maior quantidade de massa. Os componentes principais explicaram 83,83% da variação total pelos três primeiros componentes . A maior contribuição relativa na diferenciação dos indivíduos foi a característica °brix. Os três métodos de agrupamento utilizados revelaram que há divergência genética entre os indivíduos de muricizeiros.

**Palavras-chave:** Análise multivariada; *Byrsonima cydoniifolia*; Correlações; Frutas amazônicas; Variabilidade.

##### INTRODUÇÃO

*Byrsonima cydoniifolia* A.JUSS. (murici) é uma fruteira nativa de climas tropicais e subtropicais da América do Sul, México e América Central. Pertencente ao gênero *Byrsonima*, família Malpighiaceae, a mesma é encontrada em diferentes áreas do cerrado brasileiro, como os estados de Minas Gerais, Mato Grosso e Goiás. Além disso, ocorre em outros países como as Guianas, Venezuela, Colômbia, Bolívia, Peru, Costa Rica e Cuba; apresentando variedades botânicas e diferenciando-se nas características dos locais de origem (BELISÁRIO; CONEGLIAN, 2013; MENEZES et al., 2018).

Uma ampla diversidade biológica é encontrada no cerrado brasileiro, sendo reconhecida como a savana mais rica do mundo, onde aproximadamente se encontra 11.627 espécies nativas de plantas com um elevado número de espécies frutíferas (SOUZA, 2021; MORZELLE et al., 2015). A maioria dos frutos encontrados, são utilizados na alimentação e

regularmente consumidos pelas populações locais (VIEIRA et al., 2006).

Na Amazônia, o murici está distribuído pelos estados do Amapá, Pará, Roraima, Tocantins, Amazonas e Maranhão; consumido nessas regiões principalmente na forma *in natura* ou como subprodutos, na forma de doces, sucos, sorvetes, geléias e licores (REGO et al., 2014; BARBOSA et al., 2020); com um cheiro característico do próprio fruto maduro, semelhantes a queijos rançosos (SOBRINHO et al., 2020). A comercialização do murici em feiras livres e mercados públicos, tem sido uma importante fonte de renda, para as populações locais que vivem do extrativismo (GUSMÃO; VIEIRA; FONSECA JÚNIOR, 2006).

O muricizeiro é importante não só pela qualidade dos frutos que apresenta, com propriedades antioxidantes (SILVA et al., 2007; RUFINO et al., 2010) e nutracêuticas (BICAS et al., 2011), mas por ter ação medicinal (SILVA et al., 2022), rico em ácidos galacturônicos, flavonóides, ésteres aromáticos, entre outros (SANNOMIYA et al., 2007); e ainda previne o desenvolvimento de doenças, como por exemplo, câncer, depressão e diabetes (PAWLOWSKA et al., 2006).

Há uma relação entre a cor e a forma do fruto do murici, onde os fenótipos com epiderme de fruto amarelado tendem a ser mais largos e aqueles com epiderme verde são mais alongados; uma vez que a senescência causa diminuição da firmeza e aumento dos sólidos solúveis totais (PERALTA et al., 2020).

Um instrumento importante na detecção da variação genética existente dentro de populações em uma mesma espécie, é a biometria dos frutos e sementes, como também entre os fatores ambientais e relações de variabilidade (CRUZ; REGAZZI, 2012), este instrumento tem uso muito frequente em estudos com espécies perenes e semiperenes, como o tamboril (ROSÁRIO, 2022), *Astrocasia jacobinensis* (SANTOS et al., 2019), jatobá-da-mata (MOREIRA et al., 2019), e outras, importantes nos programas de melhoramento genético.

Pesquisas sobre a morfologia, tem utilizações frequentes em espécies silvestres com frutos e sementes, objetivando auxílio no entendimento do sistema reprodutivo, para aplicação em programas futuros de melhoramento, contribuindo nos estudos de produtividade, germinação, resistência, qualidade dos frutos e assessorando em técnicas para cultivos da espécie (MEDEIROS et al., 2019).

A determinação das relações genéticas de uma população à outra da mesma espécie, usufruindo métodos biométricos com análises da estatística multivariada, favorece a junção de informações múltiplas em um conjunto de caracteres. Diferentes métodos podem ser utilizados, dentre eles os caracteres canônicos, estudos por componentes principais e métodos aglomerativos (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 1994).

Diante disso, objetivou-se neste estudo analisar a divergência genética e a correlação entre os caracteres existente nos indivíduos de muricizeiros nativos da região leste do estado de Mato Grosso, por meio de técnicas de análise multivariada.

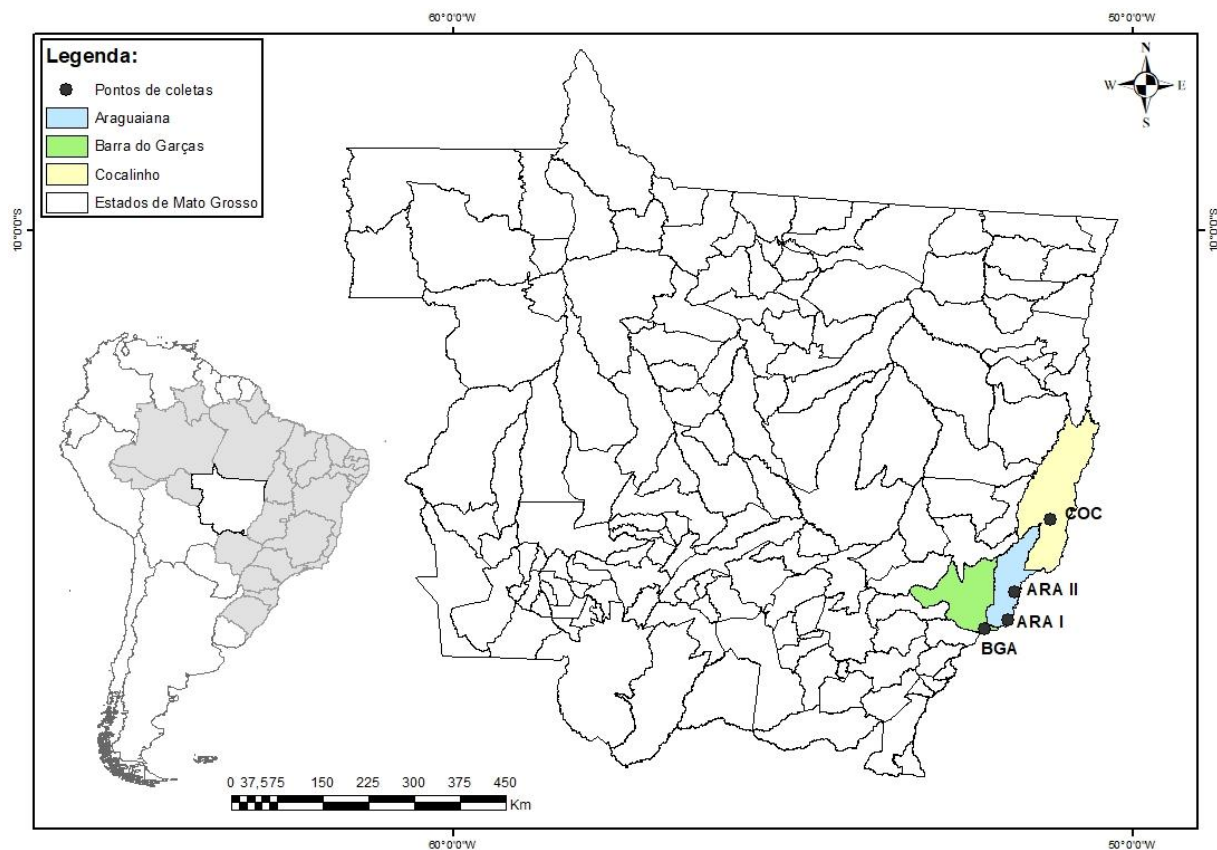
## MATERIAIS E MÉTODOS

### Área de estudo

As coletas do material vegetal (frutos) foram realizadas em quatro populações nativas de *B. cydoniifolia*, na região leste do estado de Mato Grosso (Tabela 1).

**Tabela 1.** Localização das coletas de frutos nos biomas de cerrado, Mato Grosso, Brasil.

Indivíduos	Populações	Sigla	Latitudes	Longitudes
BGA01 a BGA10	Barra do Garças	BGA	52°39' 27"W	15°42' 22"S
ARA11 a ARA20	Araguaiana-I	ARA-I	51°29' 00"W	15°18' 21"S
ARA21 a ARA30	Araguaiana-II	ARA-II	51°22' 20"W	15°12' 34"S
COC31 a COC40	Cocalinho	COC	51°05' 58"W	14°36' 44"S



**Figura 1.** Localização geográfica das quatro populações nativas de *B. cydoniifolia* situadas na região leste do estado de Mato Grosso, Brasil. Fonte: o autor.

O clima na região onde estão localizados os municípios, conforme a identificação de Köppen, é do tipo AW (clima quente e úmido) com duas estações bem definidas, verão chuvoso (outubro a março) e inverno seco (abril a setembro). A precipitação média anual é de 1.578,9

mm e a temperatura média anual 25,6 °C (BARTIMACHI et al., 2008). Esses municípios estão localizados em uma área com origens sedimentares de chapadas e serras, situados no Planalto do Médio Rio das Mortes e Alto Xingú-Araguaia, Serra do Roncador, Serra das Gerais e Serra Azul (MACHADO e CEDRO, 2009). Nesses municípios predomina-se as vegetações do tipo Cerrado (Savana de arborização), com muita presença de Campo Cerrado (Savana reserva), fragmentos de Cerradão (Savana Florestada), Veredas, Matas de Galeria e Florestas Aluviais (Floresta Estacional Semidecidual Aluvial) (MACHADO e CEDRO, 2009).

Para identificação da espécie foram coletados quatro galhos com inflorescências e folhas, durante o período de floração (agosto/2021), dentro de cada população das áreas de ocorrência natural, sendo o material conduzido ao Herbário da Amazônia Meridional (HERBAM) da Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado, para montagem das exsicatas e posterior descrição. A coleta, preservação e herborização do material teve procedimento conforme metodologia proposta por Fidalgo e Bonomi (1989). O material foi depositado sob os números de tombo: 26690, 26691, 26692 e 26693.

#### **Caracterização de frutos e sementes**

Para estimação da divergência genética por meio da morfologia dos frutos e sementes, foram coletados frutos maduros, durante o mês de janeiro de 2022, encontrados no solo, nas regiões de projeções da copa dos indivíduos, de forma aleatória foram escolhidas dez plantas dentro de cada área de estudo (população), onde foram coletados dez frutos em cada indivíduo, totalizando 100 frutos dentro de cada população nativa do Leste de Mato Grosso. Os frutos foram identificados e armazenados em sacos plásticos e inseridos em caixa de isopor com gelo durante a coleta, sendo conduzidos ao Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular (GenBioMol), da Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado, Campus de Alta Floresta, onde foram submetidos em refrigeração a -4 °C, para posterior avaliação em dez dias após a coleta.

A avaliação dos frutos ocorreu por meio de nove caracteres: comprimento do fruto (CF), largura do fruto (LF), espessura do fruto (EF), espessura da polpa (EP), ambas realizadas com o auxílio de um paquímetro digital (caliper 0-150mm) com precisão de 0,01 mm. Com auxílio de uma balança de precisão de 0,00001g, foi obtido o peso do fruto (PF) e peso da casca (PC). Para obtenção do peso da polpa do fruto (PPF): o peso do fruto foi subtraído do peso da semente e casca ( $PF - PS - PC = PPF$ ). O volume do fruto (VF) foi obtido com o deslocamento do volume de água após a imersão deste em proveta de 100 mL. Na avaliação do teor de sólidos solúveis, expresso em °brix, adicionou-se 4 mL de água à polpa de cada fruto, com o auxílio de

uma seringa, para obter uma melhor visibilidade do °brix com o uso de refratômetro manual. O teor de sólidos solúveis (SST), expresso em °brix foi avaliado com o refratômetro manual em leitura direta e correção dos dados pela temperatura.

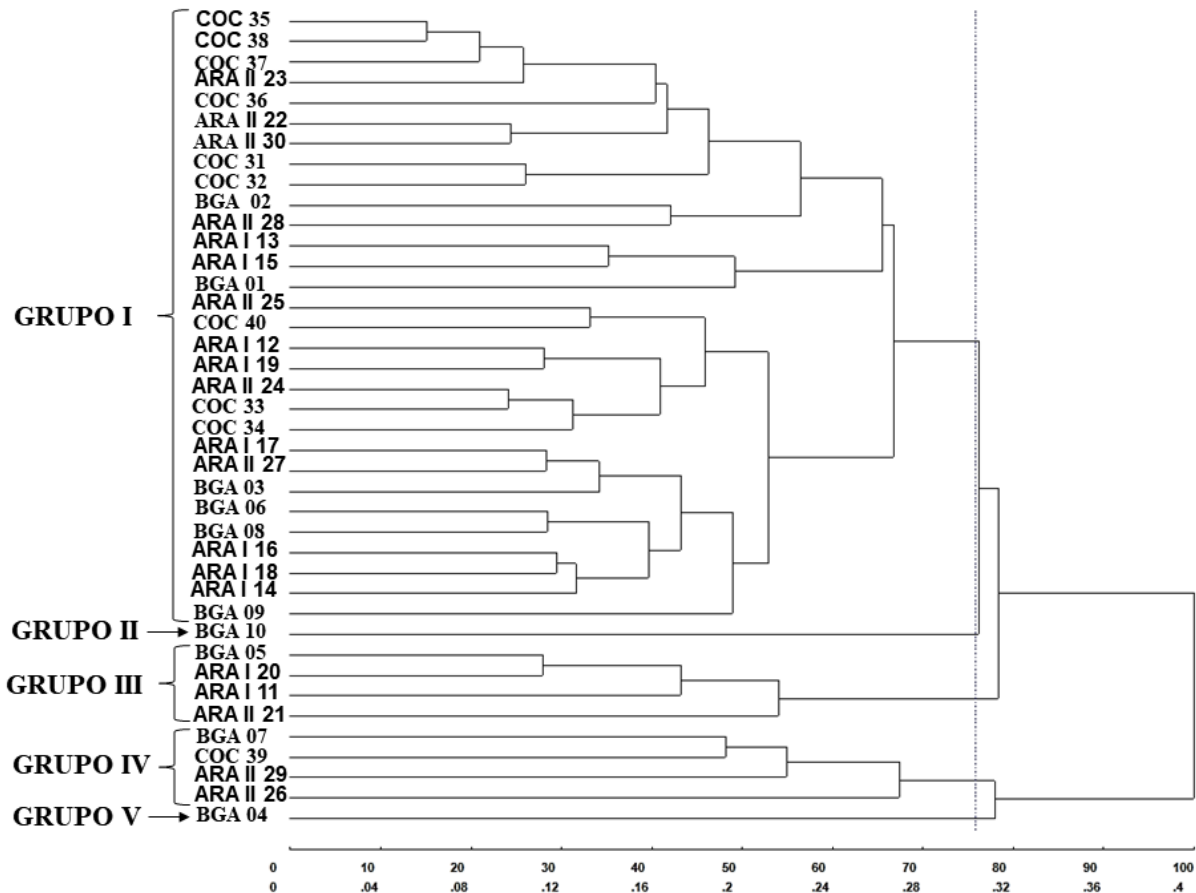
As sementes foram avaliadas por meio de seis características: comprimento da semente (CS), largura da semente (LS), espessura da semente (ES), todas efetuadas com um paquímetro digital (caliper 0-150mm) com precisão de 0,01 mm. Com auxílio de uma balança de precisão foi obtido o peso da semente (PS). O volume da semente (VS) foi efetuado com o deslocamento do volume de água após a imersão da semente em proveta de 100 ml, conforme metodologia descrita por Basso (1999). O índice de volume da semente (IVS) foi efetuado pela soma do comprimento da semente (CS), largura da semente (LS) e espessura da semente (ES) ( $CS+LS+ES = IVS$ ).

### **Análises estatística**

Foram realizadas análises multivariadas por meio dos componentes principais e análises de agrupamentos, de acordo com os métodos hierárquicos UPGMA (*Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average*) e de otimização de Tocher, utilizando-se a distância Euclidiana média padronizada como medida de dissimilaridade. A importância relativa das características para a divergência fenotípica foi estimada pelo método de Singh (1981). Para efetivação dessas análises utilizou-se o programa computacional Genes (CRUZ, 2016). Já para as características avaliadas com as correlações utilizou-se o software Rbio (BHERING, 2017).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

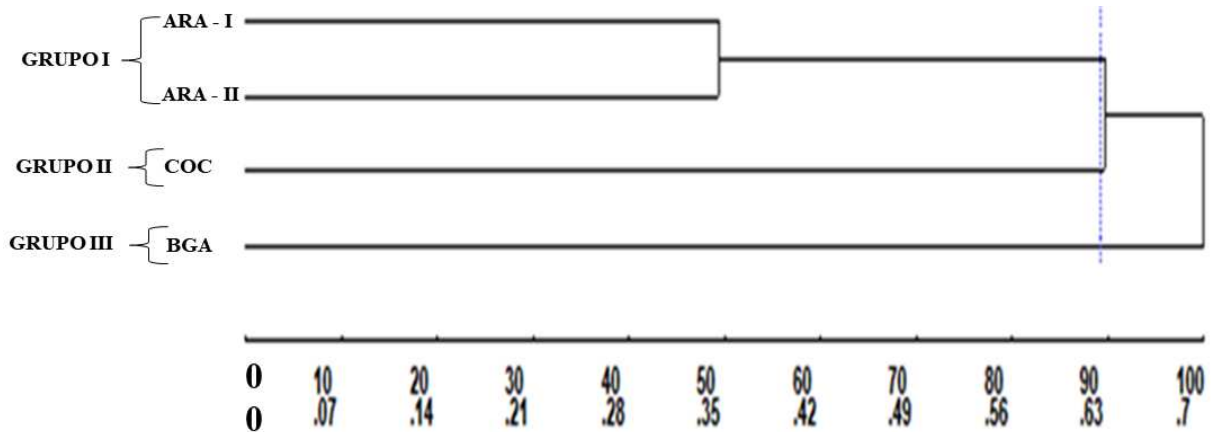
Para o estudo da divergência genética por meio do método UPGMA, o ponto de corte ocorreu em 76% de distância, conforme Mojena (1977), obtendo-se a formação de cinco grupos (Figura 2) entre os 40 indivíduos de *B. cydoniifolia*. O grupo I foi o mais numeroso, constituído por 30 indivíduos. O grupo II foi constituído apenas pelo indivíduo BGA10. O grupo III formou-se com os indivíduos: BGA05, ARA-I20, ARA-II11 e ARA-II21. Já o grupo IV foi constituído pelos indivíduos: BGA7, COC39, ARA-II29 e ARA-II26. O grupo V foi unitário, sendo formado pelo indivíduo BGA04. Resultados próximos e semelhantes foram encontrados por Santos et al. (2020), avaliando a variação genética através do método hierárquico UPGMA em *Byrsonima crassifolia* e por Gurgel et al. (2022) trabalhando com a espécie *Byrsonima dealbata*, onde ambos observaram a formação de número de grupos semelhantes a estes.



**Figura 2.** Resultado da verificação dos 40 indivíduos de *Byrsonima cydoniifolia*, através do dendrograma obtido pelo agrupamento UPGMA, utilizando a distância euclidiana média como medida de distância genética. Coeficiente de correlação cofenética (CCC) = 0,70.

O coeficiente de correlação cofenética ( $r$ ) foi de 0,70, o que segundo Sokal e Rohlf (1962) demonstra uma boa atuação gráfica das distâncias e a sua matriz real, indicando o método UPGMA como uma técnica de agrupamento mais apropriada para definir cruzamentos, pois admite observações de pares de indivíduos avaliados com suas distâncias. Resultados estes, próximos dos observados por Santana et al. (2011), trabalhando com um banco ativo de umbucazeira da Embrapa Fruticultura.

O método de agrupamento UPGMA (figura 3), separou as quatro populações de *B. cydoniifolia*, em três grupos distintos, sendo o grupo I, composto pela população ARA-I e ARA-II e o grupo II e III, foram unitário formado pelas populações COC e BGA.



**Figura 3.** Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA de quatro populações de *Byrsonima cydoniifolia*, com base em quinze características quantitativas. Coeficiente de correlação cofenética (CCC) = 0,98; Ponto de Corte = 89%.

A formação dos três grupos entre as populações obtidas, possibilita esclarecimentos significativos na conservação, quanto ao uso das populações como meio de recursos gênicos e cruzamentos, pois a indicação de genótipos superiores pode ocorrer pela recombinação entre grupos distantes (HENRIQUE et al., 2020).

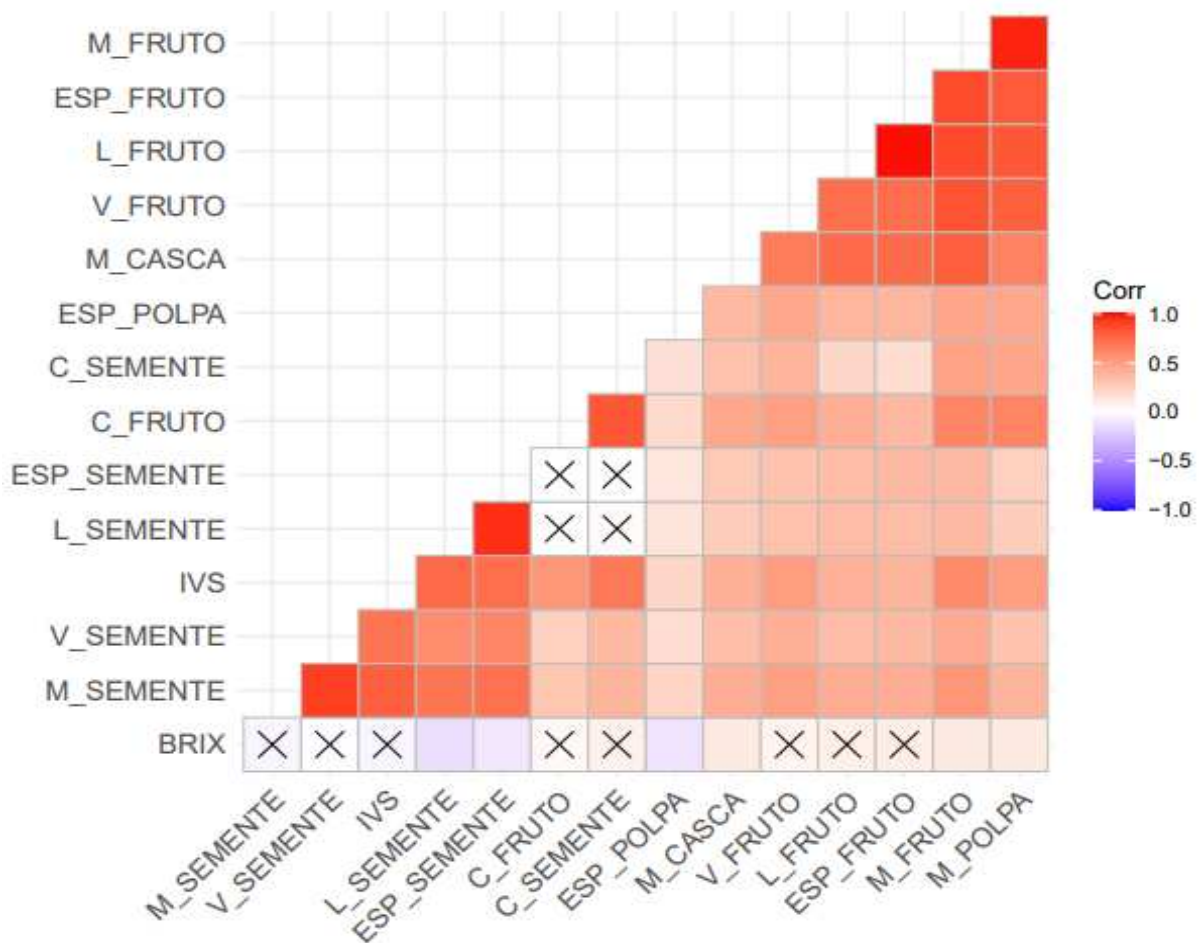
Os agrupamentos utilizados pelo mecanismo de Tocher (Tabela 2), viabilizou a separação dos 40 indivíduos em sete grupos diferentes, onde 62,5% dos indivíduos se agregaram no primeiro grupo, isso propicia uma similaridade entre a maioria dos indivíduos, mesmo com uma elevada divergência genética entre si, o que segundo Silva et al. (2011), comprova uma estreita base genética. Aspectos químicos e físicos diferentes neste primeiro grupo são previstos nos indivíduos: 13, 15 e 1 (grupo II); 5, 11 e 21 (grupo III); 34, 39, 7, 29 e 26 (grupo IV); 2 e 31 (grupo V); 10 (grupo VI) e 4 (grupo VII), pelo fato de terem constituídos grupos distintos.

**Tabela 2.** Agrupamento formado pelo método de otimização de Tocher com base na distância euclidiana média, com 15 características em frutos de 40 indivíduos de *Byrsonima cydoniifolia*.

Grupos	Indivíduos
I	COC35 COC38 COC37 ARAII23 ARAII27 ARAII22 ARAII30 COC32 COC36 ARAI20 COC40 ARAI19 BGA6 ARAI17 ARAI12 ARAII25 ARAI16 ARAII24 COC33 ARAI14 BGA3 ARAI18 BGA8 BGA9 ARAII28
II	ARAI13 ARAI15 BGA1
III	BGA5 ARAI11 ARAII21
IV	COC34 COC39 BGA7 ARAII29 ARAII26
V	BGA2 COC31
VI	BGA10

Os agrupamentos de indivíduos, através dos mecanismos de otimização de Tocher, garante parâmetros sempre menores para as distâncias intragrupos do que intergrupos (CRUZ et al., 2004). Resultados equivalentes a estes foi observados por Santos et al. (2020) avaliando muricizeiros cultivados no norte de Mato Grosso e Gurgel et al. (2022) trabalhando com genótipos de muricizeiros na região do litoral Cearense.

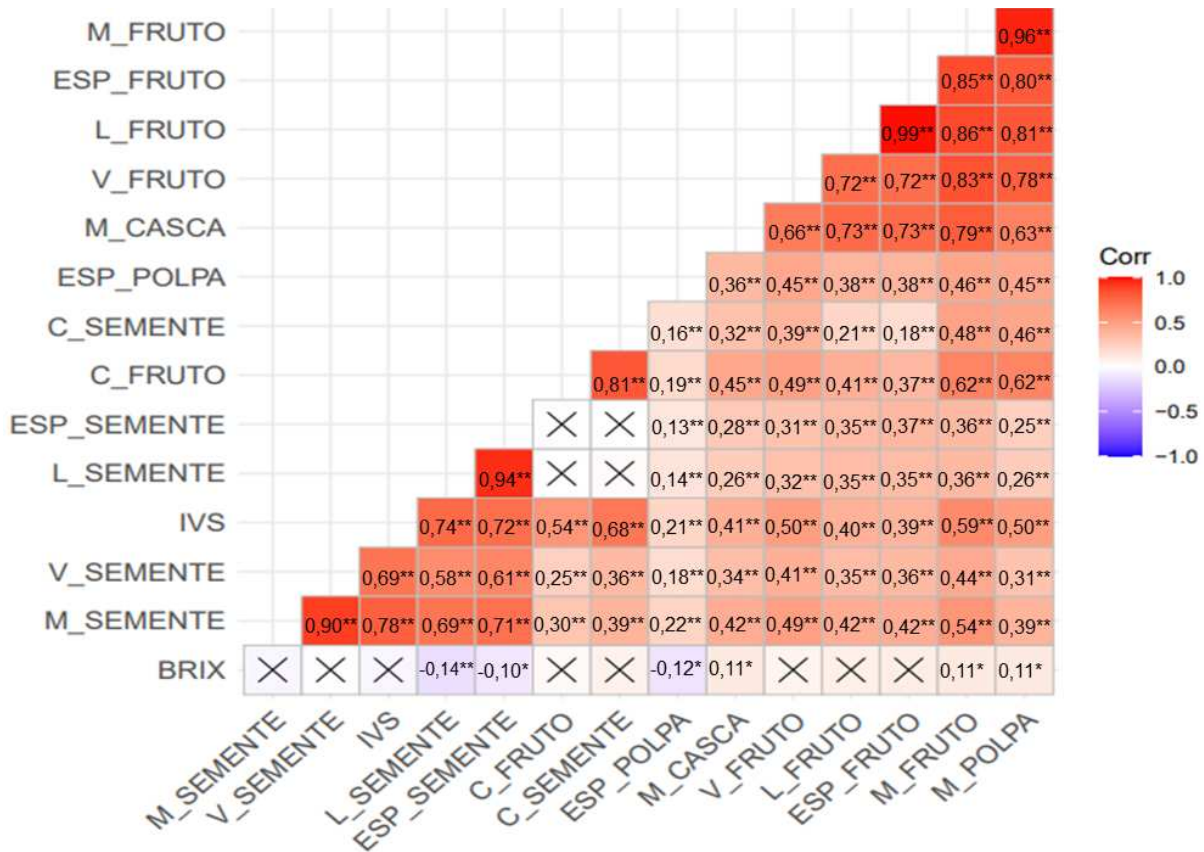
A correlação entre caracteres avaliados e apresentados no *heatmap* (Figura 4) mostra que valores iguais a zero tem cores brancas, como os apresentados entre os caracteres: espessura da semente e comprimento do futo, espessura da semente e comprimento da semente, largura da semente e comprimento do fruto, largura da semente e comprimento da semente, entre outros. Já para as cores que se aproxima do azul, indicam correlações negativas, como exemplo, temos alguns caracteres que se correlacionaram com o grau °brix e, por fim, as cores vermelhas que determinam valores positivos e altamente significativos, como exemplo: massa do fruto e massa da polpa, espessura do fruto e massa do fruto, largura do fruto e espessura do fruto, entre outros, e, portanto, próximas a unidade (Figura 4).



**Figura 4.** Correlação entre os 15 caracteres biométricos de *Byrsonima cydoniifolia*. M\_Fruto = Massa do Fruto; Esp\_Fruto = Espessura do Fruto; L\_Fruto = Largura do Fruto; V\_Fruto = Volume do Fruto; M\_Casca = Massa da Casca; Esp\_Polpa = Espessura da Polpa; C\_Semente = Comprimento da Semente; C\_Fruto = Comprimento do Fruto; Esp\_Semente = Espessura da Semente; L\_Semente = Largura da Semente; IVS = Índice de Volume das Sementes; V\_Semente = Volume da Semente; M\_Semente = Massa da Semente e BRIX.

Resultados semelhantes a esta análise, foram encontrados no estudo realizado por Santos et al. (2020), efetuando correlações entre doze características na espécie *Byrsonima crassifolia*, no Norte de Mato Grosso. É valioso salientar, que o conhecimento das correlações entre as características de determinadas espécies pode auxiliar no processo de seleção, pois este permite selecionar características de mensurações complexas, como também intervir na seleção de uma característica em relação a outra (DIAS et al., 2021).

Entre os 15 caracteres analisados através das correlações lineares de Pearson, essas mostrou que, das 105 correlações obtidas, 93 foram significativas ao nível de significância de 5 ou 1%, que é aproximadamente 89% das estimativas. Das 93 correlações significativas, 18 foram de baixa magnitude (19,3%), 43 foram moderadas (46,2%), 20 expressaram uma forte relação (21,5%) e 12 mostrou-se muito forte (13%) (Figura 5). Essas informações se assemelham ao estudo desenvolvido por Pena et al. (2022), trabalhando com modelagem mista no estudo de divergência genética de híbridos elite de milho.



**Figura 5.** Estimativas de correlações lineares simples entre 15 características avaliadas em indivíduos de *Byrsonima cydoniifolia*. \* e \*\* indicam significância ao nível de 5% e 1% de probabilidade, respectivamente. As caixas com um “X” indicam sem correlação significativa ( $p < 0,05$ ). No lado direito do correlograma, a legenda de cores mostra os coeficientes de correlação e as cores correspondentes.

Dentre as características avaliadas, 83% correlacionaram-se positivamente e 1% negativamente ao nível de significância de 1%. Ao passo que, 5% correlacionaram de forma tanto positiva quanto negativa ao nível de significância de 5% e apenas 11% das correlações, não apresentaram significância. Fortes correlações de magnitude positiva são observadas entre caracteres relacionados à produtividade em murici. Como exemplo, as correlações entre MF e MP (0,96), LF e EF (0,99), CF e CS (0,81); e outras que correlacionaram positivamente (Figura 5). Isso evidencia uma forte associação entre esses caracteres, permitindo assim, a obtenção de frutos com maior quantidade de massa. Esses resultados assemelham-se com Santos et al. (2018), em estudos com a biométrica de frutos e sementes de murici na região norte de Mato Grosso, com a espécie *Byrsonima crassifolia*. Houve também correlações moderadas entre os caracteres: EP e MC (0,36); CF e VF (0,49); MS e VF (0,49); dentre outros. Apenas a variável °brix exibiu correlações negativas e de baixa magnitude com LS (-0,14), ES (-0,10) e EP (-0,12) (Figura 5). Essas oscilações entre características são semelhantes a estudos desenvolvidos por Neto e Paula (2017). Segundo Tabarelli et al. (2003), variações entre características correlacionadas, possivelmente podem estar ligadas a fatores ambientais, como quantidade de

água e nutrientes no solo.

Os componentes principais em sua análise indicou os três primeiros constituintes (CP1, CP2 e CP3) demonstrando 83,83% da variação total, onde o primeiro componente evidenciou 51,72% e o segundo com 71,09% da variação acumulada (Tabela 3).

**Tabela 3.** Estimativas dos autovalores associados aos componentes principais, referente às 15 características dos frutos de 40 indivíduos de *Byrsonima cydoniifolia*.

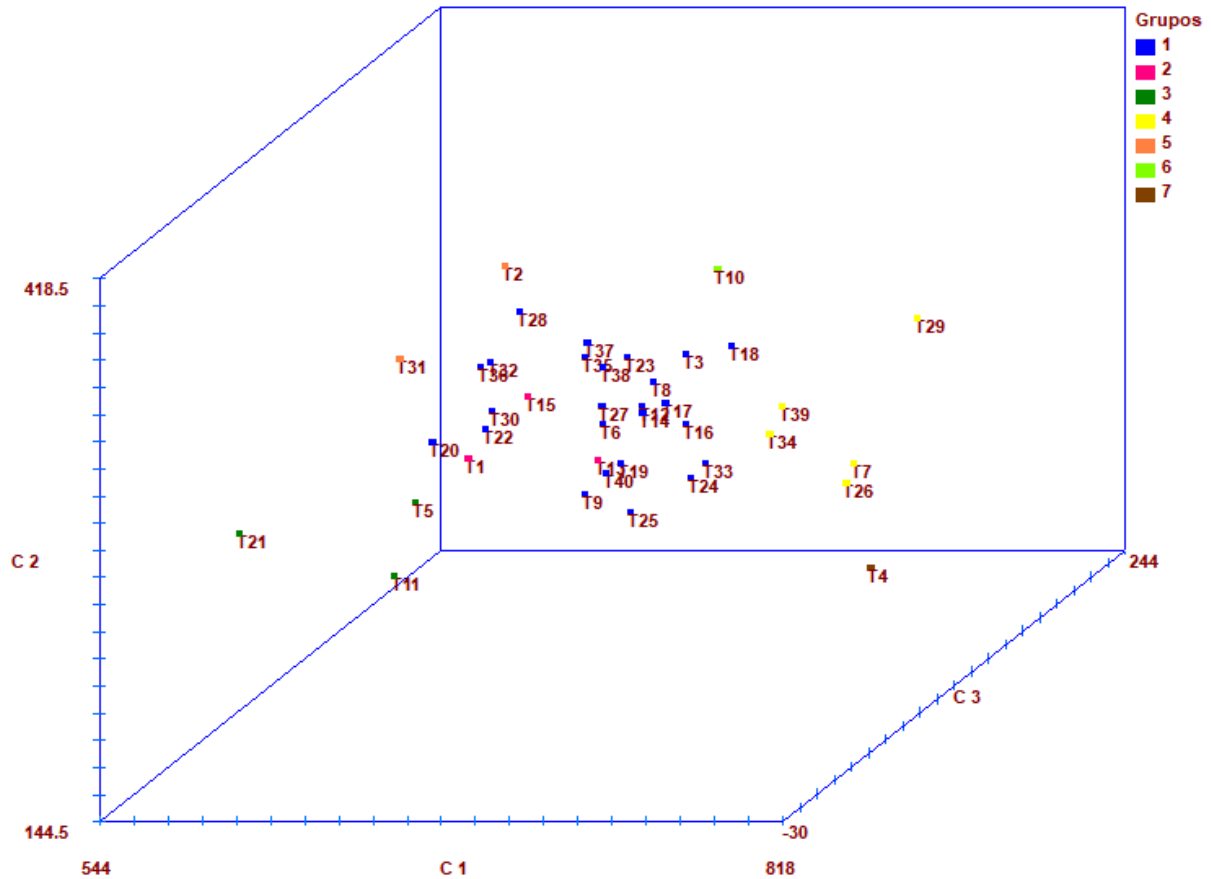
Componentes Principais	Raiz	Raiz (%)	(%) Acumulada
CPA <sup>1</sup>	7.76	51.72	51.72
CPA <sup>2</sup>	2.90	19.37	71.09
CPA <sup>3</sup>	1.91	12.74	83.83
CPA <sup>4</sup>	1.10	7.35	91.19
CPA <sup>5</sup>	0.49	3.30	94.48
CPA <sup>6</sup>	0.35	2.30	96.79
CPA <sup>7</sup>	0.19	1.28	98.07
CPA <sup>8</sup>	0.12	0.81	98.88
CPA <sup>9</sup>	0.08	0.50	99.38
CPA <sup>10</sup>	0.04	0.29	99.66
CPA <sup>11</sup>	0.03	0.22	99.89
CPA <sup>12</sup>	0.01	0.09	99.98
CPA <sup>13</sup>	0.01	0.02	99.99
CPA <sup>14</sup>	0.00	0.01	99.99
CPA <sup>15</sup>	0.00	0.00	100

Esses valores são suficientes no estudo da divergência genética, pois são excedentes ao limite de 80% (CRUZ et al., 2012). Essa análise é utilizada com o intuito de reter o máximo de explicações nas variações totais contidas nos dados iniciais. Por isso, torna-se importante a avaliação de cada característica examinada sobre a variação total, propiciando o despojo das características desnecessárias, por estarem associadas em outras características pela sua invariância ou por ser uma combinação linear de outras características (BARBOSA et al., 2006).

Os valores encontrados nesta pesquisa foram similares ao encontrado por Silva et al. (2013), ao avaliar a caracterização química e física dos frutos de mangaba, observando um acúmulo de 83,25% da variação total nos dois primeiros componentes principais. Santos et al. (2020) estudando a divergência genética entre genótipos de muricizeiros na espécie *B. crassifolia*, encontraram uma variação total de 87,51% nos três primeiros componentes principais. Entretanto, esses resultados podem ser usados em trabalhos com objetivos na seleção de genótipos para a composição de programas de pré-melhoramento, conservação de espécies e identificação de genótipos divergentes na realização de cruzamentos promissores.

Baseado nos três primeiros componentes principais a dispersão gráfica (Figura 6), utilizando o modelo tridimensional, permitiu a formação de sete grupos diferentes entre os quarenta (40) indivíduos de muricizeiros. O primeiro grupo com vinte e cinco indivíduos (ARAI20, ARAII22, ARAII30, ARAII28, COC32, ARAI18, BGA3, ARAII23, COC37, COC36, COC38, BGA8, ARAII27, ARAI14, ARAI17, ARAI16, BGA6, COC33, ARAI19, COC40, ARAII24, BGA9, ARAII25, COC35 e ARAI12), o segundo grupo com três indivíduos (BGA1, ARAI15 e ARAI13), o terceiro grupo também com três indivíduos (ARAI21, BGA5 e ARAI11), o quarto grupo com cinco indivíduos (BGA7, ARAII26, ARAII29, COC34 e COC39), o quinto grupo com dois indivíduos (BGA2 e COC31), o sexto grupo formado apenas pelo indivíduo (BGA10) e o sétimo grupo também formado por um único indivíduo (BGA4).

Conforme análise dos mecanismos empregados, pode-se observar que tanto no método de otimização de tocher (Tabela 2), quanto na dispersão gráfica (Figura 6), os 40 indivíduos de muricizeiros ficaram ordenados nos mesmos grupos, já em comparação destes ao método hierárquico de UPGMA (Figura 2), os indivíduos foram em partes harmoniosos quanto à formação dos grupos. Os indivíduos 4 e 10 permaneceram em grupos diferentes entre si e dos demais na análise dos três métodos, demonstrando a divergência fenotípica entre as plantas nas populações em estudo. Resultados semelhantes a estes, foram encontrados por Santos et al. (2020), estudando a divergência entre genótipos de *B. crassifolia*. Bispo et al. (2020) analisando a divergência genética com genótipos de *Mauritia flexuosa* através da morfometria de frutos e sementes, encontraram resultados que se assemelham a estes.



**Figura 6.** Dispersão gráfica de 40 indivíduos de *Byrsonima cydoniifolia*, em relação ao primeiro, segundo e terceiro componente principal (C1, C2 e C3) de 15 caracteres avaliados em frutos e sementes.

A contribuição relativa para a expressão da divergência genética de acordo com o método de Singh (1981), constatou que as características mais importantes quanto à discriminação dos indivíduos foram: °brix (26,11%) como a característica que mais contribuiu para a diferenciação dos indivíduos estudados. Já as características comprimento do fruto (19,45%), largura do fruto (12,53%), espessura do fruto (12,51%), índice de volume das sementes (IVS) (12,73%) e comprimento da semente (7,87%), juntas somaram 65,09% da contribuição total. Logo, as características volume do fruto, espessura da polpa, massa do fruto, largura da semente e espessura da semente contribuíram com valores próximos entre si para a distinção dos indivíduos. Por outro lado, as características que menos contribuíram para a divergência genética, com valores abaixo de 1%, foram: massa de semente, massa da casca, massa da polpa e volume da semente (Tabela 4). Conforme Alves et al. (2003), a importância em avaliar os caracteres relativos reside no descarte das características que pouco favoreceram para distinguir genótipos avaliados, diminuindo assim, tempo e gastos excessivos na experimentação. Esses valores são similares aos encontrados por Santos et al. (2020), estudando a espécie *B. crassifolia*, no norte de Mato Grosso.

**Tabela 4.** Estimativas das contribuições relativa de cada característica (Sj) através da divergência de indivíduos de *Byrsonima cydoniifolia* pelo método de Singh (1981).

Caracteres	Sj	Valor em (%)
Comprimento do Fruto	3080,99	19,45
Largura do Fruto	1985,79	12,53
Espessura do Fruto	1982,07	12,51
Volume do Fruto	255,35	1,61
Espessura da Polpa	163,64	1,03
Massa do Fruto	277,47	1,75
Massa da Casca	18,54	0,12
Massa da Semente	3,24	0,02
Massa da Polpa	149,59	0,94
Comprimento da Semente	1247,57	7,87
Largura da Semente	253,49	1,60
Espessura da Semente	266,98	1,68
Volume da Semente	4,34	0,03
IVS	2017,62	12,73
°Brix	4136,76	26,11

No melhoramento de plantas, a utilização de técnicas e análises multivariadas pode permitir em certas espécies, uma avaliação da importância relativa de caracteres na discriminação de genótipos, a construção de índices favorecendo o agrupamento de genótipos, como também, em indivíduos similares em dispersões gráficas bidimensionais ou tridimensionais, na identificação de progenitores divergentes, no estabelecimento de relações genéticas e geográficas e na avaliação da variação total disponível em grupos geneticamente aparentados (CRUZ, 1990).

### CONCLUSÕES

Com base em características morfológicas os mecanismos de agrupamentos apontaram a existência da divergência genética nos indivíduos de muricizeiros estudados. Os indivíduos BGA04 e BGA10 são os mais promissores para programas de melhoramentos futuros, conservação genética da própria espécie, como também a inserção nos bancos de germoplasma.

Os três primeiros componentes principais foram suficientes para revelarem valores satisfatórios para o estudo da divergência genética da espécie.

Grande parte dos caracteres correlacionaram-se positivamente, somente a variável °brix, permitiu uma correlação negativa com alguns caracteres.

A característica °brix apresenta maior contribuição relativa para a divergência fenotípica entre os indivíduos de murici.

Todas as análises mostraram que a espécie apresenta potencial para programas de melhoramento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, R. M.; GARCIA, A. A. F.; CRUZ, A. D.; FIGUEIRA, A. Seleção de descritores botânico-agronômicos para caracterização de germoplasma de cupuaçuzeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p.807-818, 2003. Doi.org/10.1590/S0100-204X2003000700004
- BARBOSA, L.; LOPES, P. S.; REGAZZI, A. J.; GUIMARÃES, S.E.F.; TORRES, R. Avaliação de características de qualidade da carne de suínos por meio dos componentes principais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Visçosa, v. 35, n. 4, p. 1639-1645, 2006. Doi:10.1590/S1516-35982006000600009
- BARBOSA, C. Z. DOS R., MENDONÇA, M. S. DE., SMIDERLE, O. J. Resposta da fratura e integridade dos pirênios embebidos em água e GA3 na germinação de “muricis”. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, 8(4), 311–318, 2020. <https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v8n4.barbos>
- BARTIMACHI, A.; NEVES, J.; PEDRONI, F. Predação pós-dispersão de sementes do angico *Anadenanthera falcata* (Benth.) Speng. (Leguminosae-Mimosoideae) em mata de galeria em Barra do Garças, MT. **Brazilian Journal of Botany**, v. 31, n. 2, p. 215-225, 2008. Doi:10.1590/S0100-84042008000200004
- BELISÁRIO, C. M.; CONEGLIAN, R. C. C. Qualidade de frutos de murici (*Byrsonima crassifolia*, Malpighiaceae) armazenados sob refrigeração. **Global Science and Technology**, v. 06, n. 2, p. 95-101, 2013. Doi:10.14688/1984-3801.v06n02a11
- BHERING, L.L. Rbio: A Tool For Biometric And Statistical Analysis Using The R Platform. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.17: 187-190p, 2017. Doi: org/10.1590/1984-70332017v17n2s29
- BICAS, L. J.; MOLINA, G.; DIONÍSIO, A. P.; BARROS, C. F. F.; WAGNER, R.; MARÓSTICA, J. M. R. Constituintes voláteis de frutas exóticas do Brasil. **Food Research International**. 44(7):1843-1855, 2011. Doi:10.1016/j.foodres.2011.01.012
- BISPO, R. B.; DARDENGO, J. F. E.; BISPO, R. B.; BISPO, R. B.; ROSSI, A. A. B. Divergência genética entre genótipos de *Mauritia flexuosa* L. f. por meio de morfometria de frutos e sementes. **Nativa, Sinop**, v. 8, n. 4, p. 585-590, jul./ago. 2020. Doi: 10.31413/nativa.v8i4.8622
- CRUZ, C. D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016. Doi: 10.4025/actasciagronv38i4.32629
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. v. 1, 4. ed. Viçosa: UFV, 2012. 514 p. Disponível em: [https://www.scirop.org/\(S\(lz5mqp453edsnp55rrgjet55.\)\)/reference/referencespapers.aspx?referenceid=1502833](https://www.scirop.org/(S(lz5mqp453edsnp55rrgjet55.))/reference/referencespapers.aspx?referenceid=1502833)
- CRUZ, C. D. **Aplicação de algumas técnicas multivariadas no melhoramento das plantas**. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1990. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11137/tde-20231122-093446/>.

DIAS, A. O.; NETO, P. R. M.; MAGALHÃES, A. P.; NETO, S. V. C.; MIRANDA, Z. P. Caracterização morfométrica de frutos e sementes e aspectos morfológicos da germinação e plântula de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) nativa da savana amapaense. **Research, Society and Development**, v. 10, n.13, e193101321176, 2021. Doi: org./10.33448/rsd-v10i13.1321176

FIDALGO, O.; BONONI, V. L. R. **Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico**. São Paulo: Instituto de Botânica, p. 62, 1989. Disponível em: <https://www.infraestruturameioambiente.sp.gov.br/institutodebotanica/1989/01/tecnicas-de-coleta-preservacao-e-herborizacao-de-material-botanico/>

GUSMÃO, E.; VIEIRA, F. A.; JÚNIOR, É. M. F. Biometria de frutos e endocarpos de murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss.). **Cerne**, Lavras, v. 12, n. 1, p. 84-91, 2006. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/744/74412110.pdf>

GURGEL, F. L.; NASCIMENTO, W. M. O.; CARVALHO, J. E. U. **Avaliação de Clones de Murucizeiro Promissores em Ambientes de Agricultura Familiar**. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, 1ª edição, 2022. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1146422/1/BPD158.pdf>

HENRIQUE, L. A. V.; POLETINEL, J. P.; BRONDANIL, S. T.; BARELLI, M. A.; SILVA, V. P. Caracterização morfoagronômica e divergência genética de acessos de feijão comum. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v.9, n. especial, p.128-148, 2020. Disponível: [https://www.researchgate.net/publication/346985699\\_CHARACTERIZACAO\\_MORFOAGRONOMICA\\_E\\_DIVERGENCIA\\_GENETICA\\_DE\\_ACESSOS\\_DE\\_FEIJAO\\_COMUM](https://www.researchgate.net/publication/346985699_CHARACTERIZACAO_MORFOAGRONOMICA_E_DIVERGENCIA_GENETICA_DE_ACESSOS_DE_FEIJAO_COMUM)

MACHADO, L. E. G.; CEDRO, D. B. Evolução do uso agropecuário no período de 1975 a 2008 no município de Barra do Garças – MT. In: **XIII Anais Simpósio Nacional de Geografia Física Aplicada**, Viçosa, Minas Gerais, p. 1-13, 2009.

MEDEIROS, J. X. de, FELICIANO, A. L. P., MEDEIROS, J. E. de, SANTOS, H. H. D., & MATOS, V. P. Morfologia da germinação de sementes de *Senna cana* (Nees & Mart.) H.S. Irwin & Barneby. **Nativa**, 7(6), 784–788, 2019. <https://doi.org/10.31413/nativa.v7i6.8626>

MENEZES, A. P. A.; RESENDE-MOREIRA, L. C.; BUZATTI, R. S. O.; NAZARENO, A. G.; CARLSEN, M.; LOBO, F. P.; LOVATO, M. B. Genomas de cloroplastos de espécies de *Byrsonima* (Malpighiaceae): análise comparativa e triagem de sequências de alta divergência. **Sci. Rep.** 8 (1), 1–12, 2018.

MOJENA, R. Hierarquial grouping methods and stopping rules: an evaluation. **The Computer Journal**, 20:359-363, 1977. <https://doi.org/10.1093/comjnl/20.4.359>

MOREIRA, A. M.; MOREIRA, A. C. M.; BUENO, E. S.; AZEVEDO, L. S.; DINIZ, V. S. S. Biometria de frutos e sementes e emergência de plântulas de duas espécies do gênero *hymenaea* (fabaceae). **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.16 n.29; p. 2019. Doi: 10.18677/EnciBio\_2019A32.

MORZELLE, M. C.; BACHIEGA, P.; SOUZA, E. C.; VILAS BOAS, E. V. B.; LAMOUNIER,

M. L. Caracterização química e física de frutos de curriola, gabiroba e murici provenientes do cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 1, p.96- 103, 2015. doi: 10.1590/0100-2945-036/14.

NETO, A. R.; PAULA, R.C. Variabilidade entre árvores matrizes de *Ceiba speciosa* St. Hil para características de frutos e sementes. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 2, p. 318-327, 2017. Doi: 10.5935/1806-6690.20170037

PAWLOWSKA, M.; DE LEO, M.; BRACA, A. 2006. Fenólicos de frutos de *Arbutus unedo* L (Eriaceae): identificações de antocianinas e derivados do ácido gálico. *J. Agric. Química Alimentar*. 54(26):10234-10238, 2006. doi: 10.1021/jf062230o.

PENA, G. F; MAFRA, G. S; FAZ AMARAL JÚNIOR, A. T; ALFENAS, R. F; BHERING, L. L; SANTOS, J. S; KAMPHORST, S. H; DE LIMA, V. J; DE OLIVEIRA SANTOS, T.; BISPO, R. B. Modelagem Mista em Estudo de Divergência Genética de Elite Híbridos de pipoca (*Zea mays* var. everta). **Agricultura**, 12, 910, 2022. <https://doi.org/10.3390/agriculture12070910>

PERALTA, M. A. M.; SANTILLAN, P. S.; GARCIAL, A. R. R.; LAGARDA, J. L. V. LUZARDO, M. B. B.; GUTIÉRREZ, L. A. Caracterización y evaluación de frutos de ‘nanche’ (*Byrsonima crassifolia* L.). **Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas**. Volumen 11 número 1 01 de enero - 14 de febrero, 2020. Doi:10.29312/remexca.v11i1.1950

RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; RAMOS, M. C.; SILVA, O.; MENDES, F. N.; RIBEIRO, E. K. M. D. Polinizadores do murici em uma área nativa: **Uso sustentável e restauração da diversidade dos polinizadores na agricultura e nos ecossistemas relacionados**. Rio de Janeiro, 2014. Disponível: [file:///C:/Users/borke/Downloads/BPBES-CompletoPolinizacao-1%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/borke/Downloads/BPBES-CompletoPolinizacao-1%20(1).pdf)

ROSÁRIO, L. P. C. Biometria de frutos e sementes e qualidade fisiológica de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong **Tese**: 2022. Disponível em: [https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/239217/rosario\\_lpc\\_dr\\_jabo.pdf?sequence=7&isAllowed=y](https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/239217/rosario_lpc_dr_jabo.pdf?sequence=7&isAllowed=y)

RUFINO, M. M. S.; ALVES, E. R.; DE BRITO, S. E.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURACALIXTO, F.; MANCINI FILHO, J. Compostos bioativos e capacidade antioxidante de 18 frutas tropicais não tradicionais do Brasil. **Food Chemistry**. 121(4):996-1002, 2010. doi:10.1016/j.foodchem.2010.01.037

SANNOMIYA, M.; CARDOSO, C. R. P.; FIGUEIREDO, M. E.; RODRIGUES, C. M.; DOS SANTOS, L. C.; DOS SANTOS, F. V.; SERPELONI, J. M.; CÓLUS, I. M. S.; VILEGAS, E. A. W. VARANDA, E. A. Avaliação mutagênica e investigação química de *Byrsonima intermedia* A. Juss. extratos de folhas. **Journal of Ethnopharmacology**. 112(2):319-326, 2007. doi:10.1016/j.jep.2007.03.014

SANTANA, I. B. B.; OLIVEIRA, E. J.; SOARES FILHO, W. S.; RITZINGER, R.; AMORIM, E. P.; COSTA, M. A. P. C.; MOREIRA, R. F. C. Variabilidade genética entre acessos de umbucazeira mediante análise de marcadores ISSR. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p.868-876, 2011. Doi.org/10.1590/S0100-29452011005000090

SANTOS, M. S. M. dos et al. Repetibilidade de características agroindustriais em cana-de-

açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 4, p. 301-306, 2004. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2004000400001>

SANTOS, J. F. L.; SANTOS, D. B.; ROSSI, A. A. B.; PENA, G. P.; TIAGO, A. V. Caracterização biométrica de frutos e sementes de murici (*Byrsonima crassifolia* L.) na região norte do Mato Grosso, Brasil. **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.15 n.27; p. 2018. Doi: 10.18677/EnciBio\_2018A24

SANTOS, H. K. V.; MENDONÇA, A. V. R.; SILVA, I. G.; SILVA, D. P.; SOUZA, M. O. Fruits and seeds biometry and germination of *Astrocasia jacobinensis*. **Pesquisa florestal brasileira**, Colombo, v. 39, e201801570, p. 1-10, 2019. doi: 10.4336/2019.pfb.39e201801570.

SANTOS, J. F. L.; ROSSI, A. A. B.; PENA, G. P.; TIAGO, A. V.; ZORTÉA, K. E.; CARDOSO, E. S.; PEDRI, E. C. M.; SANTOS, I. C. B.; SANTOS, D. B.; SANTOS, I. R. B. Morfologia, viabilidade polínica e índice meiótico de *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth. **Brazilian Journal of Development**. Curitiba, v. 6, n.6, p.37514-37536 jun. 2020. Doi:10.34117/bjdv6n6-328

SILVA, E. M.; SOUZA, J. N. S.; ROGEZ, H.; REES, J. F.; LARONDELLE, Y. Atividades antioxidantes e teores polifenólicos de quinze espécies vegetais selecionadas da região amazônica. **Food Chemistry**. 101(3):1012-1018, 2007. doi:10.1016/j.foodchem.2006.02.055

SILVA, G. C.; OLIVEIRA, F. J.; ANUNCIÇÃO FILHO, C. J.; NETO DES; MELO LJOT. Divergência genética entre genótipos de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v. 6, p. 52-58, 2011. Doi: <https://doi.org/10.5039/agraria.v6i1a848>

SILVA, S. S.; CRUZ, E. M. O.; REIS, R. V.; FERREIRA, C. P.; PASSOS, A. R. Caracterização morfológica e molecular de genótipos de mangaba. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 35, n. 4, p. 1093-1100, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000400021>

SILVA, K. S. P.; SILVA, H. M.; NUNES, L. S.; TOMAZ, J. M. O.; DOLABELA, M. F. Estudos químicos e atividades farmacológicas de espécies pertencentes ao gênero *Byrsonima*: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, e5411220972, 2022. Doi: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i2.20972>

SINGH, K. On the asymptotic accuracy of Efron's bootstrap. **The Annals of Statistics**, Vol. 9, n. 6, p. 1187-1195, 1981. Stable URL: <https://www.jstor.org/stable/2240409>

SOBRINHO, A. C. G., ROGEZ, H. L. G., NASCIMENTO, V. H. A. DO, TEIXEIRA, B. J. B., DIAS, A. L. DE S., & SOUZA, J. N. S. de. Determinação de compostos bioativos e capacidade sequestradora de radicais livres em extratos de folhas de *Byrsonima crassifolia* e *Inga edulis*. **Brazilian Journal of Development**, 6(6), 34954-34969, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n6-147>

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxonomy**, Vol. 11, n. 2, p. 11:33-40, 1962. Stable URL: <https://www.jstor.org/stable/1217208>  
SOUZA, E. S. Embrapa recursos genéticos e biotecnologia. Biodiversidade do bioma cerrado. **Trabalho de Conclusão de Curso**. 2021. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/252882/001130330.pdf?sequence=1>

TABARELLI, M.; VICENTE, A.; BARBOSA, D. C. A. Variation of seed dispersal spectrum of woody plants across a rainfall gradient in northeastern Brazil. **Journal of Arid Environments**, v. 53, n. 2, p. 197-210, 2003. <https://doi.org/10.1006/jare.2002.1038>

VIEIRA, R. F.; AGOSTINI, C. T.; SILVA, D. B.; FERREIRA, F. R.; SANO, S. M. Frutas nativas da região centro-oeste, Brasília: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, . 1ª edição, 320p. 2006. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Josue-Junior/publication/265250187\\_Araca/links/54062bcc0cf2c48563b248f1/Araca.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Josue-Junior/publication/265250187_Araca/links/54062bcc0cf2c48563b248f1/Araca.pdf)

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As populações de *B. cydoniifolia* apresentaram diversidade genética que pode ser selecionada, coletada e propagada, tornando-se necessária sua conservação in situ ou ex situ com a intenção de manter alelos encontrados e identificados, visto que a perda de indivíduos, diminui a diversidade da espécie.

A caracterização morfológica do pólen, pode amparar na classificação da espécie e em pesquisas de outras áreas do conhecimento que necessitam de explicações morfológicas.

*B. cydoniifolia* apresentou divergência genética entre indivíduos de muricizeiros e variação em grande parte das características estudadas.

A pesquisa mostrou informações sobre a espécie, onde a mesma deve-se inserir nos programas de ornamentação, recuperação de regiões devastadas, implantação e manutenção de cultivos, como também em programas de pré-melhoramento genético.