

DIVERSIDADE GENÉTICA POR MEIO DE CARACTERÍSTICAS
MORFOAGRONÔMICAS E MARCADORES RAPD EM ACEROLEIRA
(*Malpighia emarginata* D.C.)

MARCOS GÓES OLIVEIRA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO - UENF
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
ABRIL – 2008

DIVERSIDADE GENÉTICA POR MEIO DE CARACTERÍSTICAS
MORFOAGRONÔMICAS E MARCADORES RAPD EM ACEROLEIRA
(*Malpighia emarginata* D.C.)

MARCOS GÓES OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas.

Orientador: Prof. Jurandi Gonçalves de Oliveira

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
ABRIL – 2008

DIVERSIDADE GENÉTICA POR MEIO DE CARACTERÍSTICAS
MORFOAGRONÔMICAS E MARCADORES RAPD EM ACEROLEIRA
(*Malpighia emarginata* D.C.)

MARCOS GÓES OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas.

Aprovada em 01 de Abril de 2008.

Comissão Examinadora:

Prof. Alexandre Pio Viana (Doutor-Produção Vegetal) – UENF

Prof. Messias Gonzaga Pereira (Ph.D.-Genética e Melhoramento) – UENF

Dr. Marcos José de Oliveira Fonseca (Doutor-Produção Vegetal) EMBRAPA – CTAA

Prof. Jurandi Gonçalves de Oliveira (Doutor-Biologia Vegetal) – UENF
(Orientador)

À minha querida tia Judite, à querida Camilla e aos meus maravilhosos familiares, que sempre me apoiaram nas minhas escolhas e, sem o seu apoio e dedicação, não conseguiria chegar à pós-graduação.

Dedico e ofereço esse trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por imensas bênçãos concebidas, e aos meus pais e todos os familiares, pelo incentivo.

À UENF e ao CCTA, pela oportunidade de realizar o curso de mestrado.

À FAPERJ, pela concessão da bolsa.

Ao professor Jurandi Gonçalves de Oliveira, pelos ensinamentos, pelo incentivo, amizade e orientação.

Ao Pesquisador Guilherme Eugênio Machado Lopes, da Pesagro, e ao Amigo Aroldo Gomes Filho, pelo apoio durante a realização do experimento.

Aos professores Messias Gonzaga, Alexandre Pio Viana e Gonçalo Apolinário, pelas contribuições e sugestões.

À técnica do laboratório de marcadores de DNA, Vitória, pela ajuda e dedicação.

Aos grandes amigos da minha terrinha, principalmente a Luciana, Charles, Grazi, Marilene, Francinaide e Roberta.

Aos Companheiros e amigos de República, Sérgio, Pedro, Sávio, Francisco, Ricardo e Adriano.

Aos amigos que fiz na UENF, que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	04
2.1. Importância econômica	04
2.2. Centro de origem e introdução da aceroleira no Brasil	05
2.3. Aspectos botânicos e citogenética	05
2.4. Descrição e características da aceroleira	06
2.5. Melhoramento genético da aceroleira	07
2.6. Marcadores moleculares	09
2.7. Divergência morfológica e genética	10
2.8. Análise multivariada	12
3. MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1. Material genético	14
3.2. Caracterização Morfoagronômica	14
3.2.1. Descritores	14
3.2.2. Avaliação física, química e físico-química	16
3.2.3. Análise estatística	17
3.3. Análise por marcadores moleculares	18
3.3.1. Extração de DNA	18
3.3.2. Quantificação do DNA	19

3.3.3. Ensaio de polimorfismo de DNA amplificado arbitrariamente	20
3.3.4. Seleção de iniciadores	20
3.3.5. Análise estatística dos marcadores RAPD	21
3.3.6. Métodos de agrupamento	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1. Caracterização Morfoagronômica	22
4.1.2. Caracterização Morfoagronômica: qualitativos.....	22
4.1.3. Caracterização Morfoagronômica: quantitativos	25
4.2. Componentes principais.....	27
4.3. Importância relativa dos caracteres.....	29
4.4. Métodos de agrupamento	30
4.4.1. Método de otimização de Tocher	30
4.4.2. Método hierárquico UPGMA	31
4.4.3. Variáveis multicategóricas.....	32
4.5. Variáveis físicas e químicas e físico-químicas	36
4.6. Componentes principais.....	43
4.6.1. Importância relativa dos caracteres para diversidade genética.....	46
4.7. Ensaio de RAPD.....	48
4.7.1. Diversidade genética.....	50
4.7.2 Análise de agrupamento pelo método de Tocher e UPGMA	51
4.8. Concordância entre marcadores RAPD e características morfoagronômicas	57
5. CONCLUSÕES	61
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

RESUMO

Oliveira, M. G.; M. Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, abril de 2008; Diversidade genética por meio de características morfoagronômicas e marcadores RAPD em aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). Orientador: Prof. Jurandi Gonçalves de Oliveira.

O conhecimento da variabilidade genética e da relação entre diferentes acessos de aceroleira é importante para maximizar o uso dos recursos genéticos para futuros programas de melhoramento. Neste trabalho objetivou-se avaliar a divergência genética entre acessos de aceroleiras, por meio de características morfoagronômicas e marcadores moleculares RAPD. Utilizou-se 48 acessos de uma população de aceroleiras semeados na estação experimental da Pesagro - RIO, localizado no município de Itaocara-RJ. Dividiu-se o trabalho em duas etapas: caracterização morfoagronômica, sendo realizada com base na relação de descritores mínimos para essa espécie; avaliações físico-químicas e diversidade molecular por meio de marcadores RAPD. Para as avaliações morfoagronômicas, realizou-se análises estatísticas utilizando componentes principais e a importância relativa dos caracteres. Para o RAPD, utilizou-se a matriz de distâncias, com base no complemento aritmético do índice de Jaccard, para o agrupamento dos acessos pelos métodos de Otimização de Tocher e UPGMA. Os resultados demonstraram que houve variabilidade genética entre os acessos estudados. Assim, selecionou-se três características quantitativas consideradas de maior importância relativa para estudo de divergência genética, sendo essas: diâmetro do caule, comprimento da folha madura e largura máxima

da folha. Para as avaliações físico-químicas, verificou-se que houve aumento de pH e SST entre os acessos do estágio de 'vez' para o estágio semimaduro. Frutos no estágio 'de vez' apresentaram maiores valores de teor de ácido ascórbico, independente do acesso, ocorrendo uma redução gradativa até a maturação final do fruto, indicando que há possível correlação entre o teor de ácido ascórbico e o estágio de maturação. A técnica de marcadores RAPD foi eficaz para o estudo de diversidade entre os acessos, mostrando que a população possui ampla variabilidade genética. Os resultados mostraram que os acessos ACE 001, ACE 014, ACE 031, ACE 038, ACE 043 e ACE 046 podem ser indicados para propagação vegetativa e avaliação clonal, pois apresentaram alto teor de ácido ascórbico, coloração da casca do fruto maduro avermelhada e frutos mais largos e altos, o que define o formato como globuloso.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Marcos Goes; M.S.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; April 2008; Genetic diversity by morpho-agronomic characteristics and RAPD markers in Barbados cherry (*Malpighia emarginata* D.C.). Adviser: Jurandi Gonçalves de Oliveira.

The comprehension of genetic variability and the relationships among Barbados cherry accessions are important to maximize the use of genetic resources in genetic breeding programs. The objective of this work was to evaluate the genetic divergence among Barbados cherry accessions using morpho-agronomic traits and RAPD markers. Forty-eight accessions of a Barbados cherry population from Pesagro experiment station, Itaocara, RJ, were analyzed. The work was divided in two stages: the morpho-agronomic characterization, based on the minimum descriptors list used to this species; the physico-chemical evaluations and molecular diversity using RAPD markers. The morpho-agronomic characteristics were statistically evaluated using the principal component analysis (PCA) and the relative contribution of each trait. The molecular analysis used the distance matrix, based on Jaccard's arithmetic complement index, and the accessions were grouped using both Tocher and UPGMA methods. The results showed genetic variability among the accessions. Thus, three quantitative traits of higher relative importance were selected to study the genetic divergence: stem diameter, length of the mature leaf and maximum width of the leaf. During the physico-chemical evaluations, it was verified an increase of both pH and SST among accessions, from mature green stage to breaker stage. Mature green stage fruits showed higher ascorbic acid values,

independent of the accession, with a gradual decrease until the final maturation of the fruit, indicating a possible correlation between ascorbic acid amount and maturation stage. The RAPD markers were efficient to study the diversity among accessions, showing a large genetic variability among them. The results showed the accessions ACE 001, ACE 014, ACE 031, ACE 038, ACE 043 and ACE 046 can be indicated to vegetative propagation and clonal evaluation; they presented high ascorbic acid amount, reddish skin color in mature fruits, wide and high fruits that define the globular format.

1. INTRODUÇÃO

A aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.) teve sua origem nas Antilhas e, posteriormente, dispersou-se para outras regiões do mundo, estabelecendo-se particularmente em ecossistemas tropicais e subtropicais do continente americano (De Rosso & Mercadante., 2005). No Brasil, a acerola é conhecida há mais de 60 anos (Neto et al., 1995). Entretanto, o cultivo de acerola teve um acelerado crescimento nos últimos 20 anos e, atualmente, com o aumento da procura por alimentos naturais, a acerola teve um grande impulso no seu consumo (Moura et al., 2007).

De acordo com Matsuura et al. (2003), a acerola é nutricionalmente importante, devido ao seu alto teor de ácido ascórbico, sendo um produto amplamente utilizado na indústria farmacêutica e de alimentos. Entretanto, segundo Assis et al. (2001), além do alto teor de ácido ascórbico, estão presentes na composição da acerola, quantidades expressivas de vitamina A, ferro, cálcio, fósforo, riboflavina e niacina.

Nos pomares brasileiros, observa-se alta variabilidade entre os genótipos cultivados no que se refere a importantes características como produtividade, hábito de crescimento e porte da planta, arquitetura da copa, cor, sabor, consistência e tamanho do fruto, além do rendimento da polpa, entre outras, o que é atribuído à da propagação seminal (Paiva et al., 1999). Essa alta variabilidade dos genótipos vem acarretando sérios problemas ao sistema de

produção, pois dificulta a execução racional de todas as práticas culturais, desorganizando o sistema de comercialização do produtor.

Por outro lado, a ocorrência dessa variabilidade entre os genótipos cultivados nos pomares brasileiros pode ser explorado em programas de melhoramento vegetal pela seleção de indivíduos superiores, com base em características de interesse do mercado consumidor, bem como genótipos melhores adaptados às diversas regiões produtoras do país.

No Brasil, algumas instituições de pesquisa vêm trabalhando para o lançamento de novos materiais, proporcionando novas perspectivas aos produtores. Dentre essas estão a Flor Branca, Inada, Número 1, Número 54/02, a Okinawa e a Sertaneja. Soares Filho & Oliveira (2002) relatam que o único cultivar recomendado para o plantio comercial é a sertaneja Brs, sendo lançada pela Embrapa semi-árido (CPATSA). Em plantios comerciais a produção varia de 20 a 50 kg de frutos/planta/ano (Alves et al., 1995).

A principal barreira encontrada nos programas de melhoramento genético da aceroleira é a obtenção de cultivares com maior produtividade e conteúdo de vitamina C. Tais programas de melhoramento da cultura visam, principalmente, a seleção de genótipos superiores, ou a geração de clones ou populações com maior uniformidade genética, propiciando frutos que satisfaçam aos mais diferentes consumidores, de forma a conquistar mercados do país e do mundo (Paiva et al., 1999).

Atualmente, os programas de melhoramento genético têm utilizado a associação de técnicas clássicas a ferramentas biotecnológicas como, por exemplo, o uso de marcadores moleculares com ganhos substanciais na redução do tempo para identificação da diversidade genética entre os indivíduos trabalhados (Xavier et al., 2005).

Os marcadores moleculares tipo RAPD (amplificação polimórfica de DNA arbitrária), por se tratar de uma técnica rápida, de custo relativamente baixo, porém com potencial informativo (Williams et al., 1990), tem sido empregada para estudos de diversidade genética em aceroleira (Salla et al., 2002), bananeira (Souza, 2006), açaizeiro (Oliveira et al., 2007) e maracujazeiro (Viana et al., 2003).

No presente trabalho teve-se como objetivo, avaliar a diversidade genética entre os acessos de uma população de aceroleiras via marcadores moleculares

RAPD e descritores morfoagronômicos, visando identificar genótipos promissores para utilização em programas de melhoramento da cultura.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância Econômica

A acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) tem atraído o interesse dos fruticultores e passou a ter importância econômica em várias regiões do Brasil, pelo seu potencial como fonte natural de vitamina C e sua grande capacidade de aproveitamento industrial (Nogueira et al., 2002).

O Brasil destaca-se como o maior produtor, consumidor e exportador mundial de acerola, possuindo uma área plantada na região Nordeste superior a 2.000 ha (França & Narain, 2003). Existem plantios comerciais de aceroleiras em praticamente todos os estados brasileiros (Alves, 1996). De acordo com Donadio et al. (1998), a acerola é cultivada em maior escala comercial nos Estados da Bahia, Pernambuco, Paraíba, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Norte, Pará e Amazônia. Contudo, é na região Nordeste que, devido as suas condições edafoclimáticas favoráveis, a aceroleira melhor se adaptou (Paiva et al., 1999).

A maior parte da produção brasileira de aceroleira encontrar-se vinculada ao setor agroindustrial (Coelho et al., 2003), com vistas ao aproveitamento dos frutos. Entretanto, parte considerável dessa produção não é aproveitada, devido à alta perecibilidade dos frutos, fazendo com que cerca de 60% permaneça no mercado interno e 40%, direcionados para o mercado externo (Oliveira & Soares Filho, 1998), principalmente para o Japão, Europa e Estados Unidos (Coelho et al., 2003).

A acerola apresenta potencial para industrialização, uma vez que pode ser consumida sob a forma de compotas, de geléias, utilizada no enriquecimento de

sucos e de alimentos dietéticos, na forma de alimentos nutracêuticos como comprimidos ou cápsulas, empregados como suplemento alimentar, chás, bebidas para esportistas, barras de cereais e iogurtes (Carpentieri-Pípolo et al., 2002). Além disso, a acerola pode ser consumida na forma de suco integral, concentrado ou liofilizado, licor, bombons, goma de mascar, néctares, purê, sorvetes, cobertura de biscoitos, refrigerantes, dentre outras (Carvalho, 2000). No entanto, as formas mais comuns de comercialização da acerola são o fruto *in natura*, a polpa congelada e o suco engarrafado (Yamashita et al., 2003).

2.2 Centro de Origem e Introdução da Aceroleira no Brasil

A aceroleira ou “cerejeira das Antilhas” (*Malpighia emarginata* D.C.) é uma planta típica de países de clima tropical, com seu centro de origem na região do Mar das Antilhas, Norte da América do Sul e América Central (Lopes & Paiva, 2002).

Por muito tempo, essa “cerejeira tropical” permaneceu florescendo e frutificando em terras americanas, sem despertar maiores atenções. Acredita-se que o cultivo dessa planta passou a ter maior impulso a partir do ano de 1946, quando Asenso e Guzman, citados por Marty e Pennock (1965), descobriram o alto teor de vitamina C dos seus frutos. A partir desse momento, teve início, em Porto Rico, o plantio comercial da aceroleira, expandindo-se para Cuba, Flórida, Hawai e outros lugares do mundo.

No Brasil, a aceroleira foi introduzida em 1955, na região Nordeste, através da Universidade Federal Rural de Pernambuco, com sementes trazidas de Porto Rico (Simão, 1971). Entretanto, segundo Andrade et al. (1995), o cultivo da aceroleira adquiriu escala comercial somente na década de 80, sendo pioneiros os Estados da Bahia e do Pará, que visavam à exportação da acerola para a Europa e o Japão.

2.3 Aspectos Botânicos e Citogenética

A classificação botânica da acerola tem sido controversa. Apesar da adoção do nome *Malpighia emarginata*, pelo Conselho Internacional de Recursos Genéticos Vegetais em 1986, essa denominação ainda é pouco utilizada, visto

que, inicialmente, ela foi classificada como *M. puniceifolia* e *M. glabra*. Entretanto, Asenjo (1980) reporta que os nomes *M. glabra* e *M. puniceifolia* são sinônimos, porém, aplicados a uma espécie diferente de aceroleira, devendo-se à espécie o nome de *Malpighia emarginata* D.C.. Nogueira (1997), estudando as expressões fisiológicas da aceroleira enviou diversas amostras para o Dr. Willian R. Anderson, especialista na família Malpighiaceae, que constatou tratar-se de uma única espécie, *M. emarginata* D.C., utilizada corretamente para designar aceroleira.

A aceroleira é uma Magnoliopsida pertencente à família das Malpighiaceae, a qual é formada por 39 a 41 espécies de arbustos e pequenas árvores. De acordo com estudos citados por Alves & Menezes (1995), a aceroleira apresenta a seguinte classificação:

Divisão: Tracheophita

Subdivisão: Spermatophitina

Classe: Magnoliopsida

Família: Malpighiaceae

Gênero: Malpighia

Espécie: *Malpighia emarginata* D. C.

Com a finalidade de obter informações sobre o número de cromossomos e a fertilidade do pólen, Singhal et al. (1985) estudaram algumas espécies de Malpighiaceae, verificando que as mesmas apresentaram número de cromossomos $2n = 20$ e 90% de fertilidade do grão de pólen. Cavalcante et al. (1998), em estudos citogenéticos realizados em oito genótipos de acerola, selecionados pela Embrapa Mandioca e Fruticultura, observaram que todos os genótipos estudados eram diplóides com $2n = 20$ cromossomos.

2.4 Descrição e Características da Aceroleira

Ledin (1958), citado por Araújo & Minami (1994), descreve a aceroleira como um arbusto glabro, de porte médio, com 2 a 3 metros de altura, com diâmetro de copa atingindo até 3 metros. A planta apresenta, ainda, haste ou pequeno tronco único, freqüentemente ramificado, com copa densa, formada por numerosos ramos lenhosos espalhados, geralmente curvados para baixo. As folhas são elípticas, ovais de 2 a 7,5 cm de comprimento e 1 a 6 cm de largura.

De acordo com Simão (1971), o fruto da aceroleira é uma drupa de forma arredondada, com diâmetro variando de 1 a 3 cm, pesando de 3 a 16 g. O tamanho do fruto varia em função do potencial genético da planta, tratos culturais e do número de frutos por axila. A coloração dos frutos maduros pode variar entre vermelha, roxa ou amarela.

A flor da aceroleira apresenta algumas características de espécie autógama, a flor completa apresentando androceu e gineceu, amadurecimento simultâneo do androceu e gineceu e ausência de barreiras físicas que impedem a autofecundação. Associado a essas características, é comum a produção de frutos em plantas isoladas. Entretanto, Lopes et al., (2002) em estudo da estimativa da taxa de cruzamento da aceroleira, com base em dados isoenzimáticos, concluíram que a aceroleira demonstra ser uma espécie predominantemente alógama, devido à grande variabilidade fenotípica observada nos pomares, o que sugere a ocorrência de recombinação. Segundo esses autores, a autofecundação de botões florais em condições experimentais promove uma menor fixação de frutos quando comparado ao cruzamento manual e a polinização natural.

O desenvolvimento do fruto ocorre muito rapidamente, abrangendo 22 dias, desde o florescimento até a maturação (Batista et al., 1991; Gomes et al., 2001). O conhecimento da duração do ciclo da cultura é importante para o produtor de acerola, que pode assim programar, com maior perspectiva de acerto, suas atividades de colheita e comercialização da fruta nos mercados interno e externo.

A aceroleira pode produzir de quatro a seis floradas por ano, se bem conduzida (Almeida & Araújo, 1992). Essa resposta se deve basicamente às condições edafoclimáticas associadas à prática da irrigação, favorecerem vários surtos de crescimento, proporcionando, assim, a floração e frutificação quase contínua. É importante que a planta seja adequadamente suprida, sobretudo com fonte de nitrogênio e água após uma floração, pois é comum o abortamento de flores submetidas a condições adversas.

2.5 Melhoramentos Genéticos da Aceroleira

A geração de novos cultivares mais produtivos e com características qualitativas superiores como cor do fruto, sabor, odor, textura e coloração da

polpa, teor de açúcares, acidez, resistência ao transporte, entre outros, tem sido o grande desafio do melhoramento genético de aceroleira. Segundo Paiva et al. (1999), o melhoramento vegetal visa explorar a variabilidade genética existente na obtenção de clones ou populações com maior uniformidade genética, que propiciem frutos que satisfaçam aos mais diferentes mercados das regiões mais desenvolvidas e economicamente mais prósperas do Brasil e do mundo.

Diversos trabalhos isolados têm sido conduzidos em algumas instituições, onde estão sendo desenvolvidos estudos básicos de suporte ao melhoramento da aceroleira, como os relacionados à biologia reprodutiva (Magalhães & Ohashi, 1997; Gomes et al., 1998), à citogenética (Cavalcante et al., 1998), ao controle genético das características do fruto (Lopes, 1999), entre outros. Entretanto, os procedimentos mais comuns adotados no melhoramento de aceroleira têm sido a introdução de germoplasma, a seleção clonal e a hibridação seguida de seleção.

A principal metodologia adotada nos programas de melhoramento de aceroleira é a seleção de clones, pois além do resultado ser observado em curto prazo, devido à aceroleira ser uma espécie que pode ser propagada vegetativamente, é, também, a maneira mais eficiente para suprir a demanda imediata de variedades, onde o genótipo de cada planta pode ser transmitido integralmente por meio das gerações (Paiva et al., 2003).

Paiva et al. (2003), avaliando germoplasmas de aceroleiras com o objetivo de verificar o desempenho de 45 clones e selecionar aqueles que se destacassem, em relação ao desenvolvimento vegetativo das plantas, a produção e a qualidade dos frutos, encontraram, com base em características morfológicas, quatro genótipos superiores. A seleção baseou-se na combinação das características de conformação da copa da planta, produção de frutos, teor de vitamina C, entre outras.

Bosco et al. (1994) selecionaram nove clones de aceroleira, com base em características fenológicas da planta e morfologia dos frutos. O peso dos frutos variou de 7,02 a 9,68 g; o diâmetro médio dos frutos foi de 2,51 cm e, de forma geral, os clones selecionados apresentaram consistência, cor e sabor que atendem plenamente às exigências do mercado.

Na quase totalidade dos pomares instalados no Brasil, observa-se uma mescla bastante acentuada de tipos e formas de aceroleiras, sendo comum encontrar em um mesmo pomar plantas com hábito de crescimento distinto e

frutos com formato, coloração e tamanho diferentes. Dessa forma, os melhoristas têm observado que há necessidade de pesquisas no sentido de caracterizar, selecionar e difundir materiais genéticos. Assim, cada instituição tem adotado nomes e códigos nos bancos de germoplasmas, para identificar e diferenciar os frutos em relação aos seus respectivos genótipos.

2.6 Marcadores Moleculares

Marcador molecular pode ser definido como todo e qualquer fenótipo decorrente da expressão de um gene, como no caso de proteínas, caracteres morfológicos, ou de um segmento específico de DNA (correspondentes a regiões expressas ou não do genoma), cuja seqüência e função podem ou não ser conhecidas (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Segundo Milach (1998), o marcador molecular é uma característica do DNA, herdado geneticamente, que diferencia dois ou mais indivíduos.

Os marcadores moleculares apresentam-se como uma ferramenta importante para a caracterização genética, contribuindo, assim, para amenizar e retificar os problemas relacionados a duplicações em bancos de germoplasma, bem como a identificação de cultivares divergentes (Nass, 2001). Os marcadores moleculares também são empregados extensivamente, e com sucesso, na análise genética de plantas e na caracterização da variabilidade existente entre os indivíduos.

A análise genética de indivíduos evoluiu bastante nestes últimos anos, através do desenvolvimento da técnica de amplificação de seqüências de DNA, que permite a comparação direta dos alelos, através da composição da seqüência de nucleotídeos. Essa metodologia, denominada de PCR (Reação de polimerase em cadeia), permite comparar os organismos em nível molecular, sem influência do ambiente ou idade do tecido (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Existem várias técnicas que permitem identificar diretamente o polimorfismo de DNA e, portanto, marcar seqüências ou partes específicas do mesmo. Marcadores como RAPD, Microsatélite e AFLP são alguns dos mais utilizados em estudos genéticos Ferreira & Grattapaglia (1988).

Variações da PCR, tais como RAPD (random amplified polymorphic DNA), têm sido amplamente utilizadas para estudos genéticos em fruteiras, podendo ser

citados, o uso de marcadores moleculares na análise da variabilidade genética em aceroleira (Salla et al., 2002); estudos de caracterização de variedades em uva (Ulanovsky et al., 2002); avaliação de diversidade genética em bananeira (Souza, 2006) e coqueiro (Wadt, 1997). A técnica de RAPD baseia-se na repetição cíclica da extensão enzimática de iniciadores (pequenas seqüências complementares de DNA), que se anelam nos dois extremos opostos de uma fita de DNA, que serve como molde. Nessa técnica, utiliza-se apenas um único iniciador ao invés de um par, como na PCR, sendo que esse iniciador tem sua seqüência arbitrária e, portanto, sua seqüência alvo é desconhecida.

A técnica de RAPD, dentre as citadas, é a de menor custo, número de etapas e tempo para obtenção dos resultados, sendo mais fácil de ser implementada. Essa, contudo, tem a desvantagem de ser de repetibilidade baixa e pouco consistente de um laboratório para o outro, o que dificulta a comparação de dados obtidos em diferentes locais. Assim, cuidados devem ser tomados na padronização da técnica no laboratório para a caracterização de cultivares. O nível de polimorfismo obtido com RAPDs varia grandemente com a espécie em questão e tem sido utilizada com sucesso na caracterização de plantas.

2.7 Divergência Morfológica e Genética

Nos programas de melhoramento de plantas, a informação quanto à diversidade e à divergência genética, dentro de uma espécie, é essencial para o uso racional dos recursos genéticos (Loarce et al., 1996). Os estudos sobre a diversidade genética nas coleções de germoplasma podem ser realizados a partir de caracteres morfológicos de natureza qualitativa ou quantitativa (Moreira et al., 1994).

A caracterização molecular da diversidade genética do germoplasma pode fornecer dados úteis para auxiliar o melhorista na identificação e na seleção dos genitores ou clones básicos para estabelecer um programa de melhoramento. A informação sobre a diversidade genética pode auxiliar programas de melhoramento, bem como evitar as redundâncias ou misturas de genótipos em estudos e programas de conservação de germoplasma.

De acordo com Shimoya et al. (2002), a avaliação da divergência genética é efetuada por diversos métodos que levam em consideração as características

agronômicas, fisiológicas, genéticas e morfológicas. Isso fornece informações para a identificação de genitores que, quando cruzados, aumentam as chances de produzirem genótipos superiores nas gerações segregantes.

No estudo da divergência genética podem ser utilizados vários métodos. Essa escolha baseia-se na precisão desejada pelo pesquisador, na facilidade da análise e na forma como os dados foram obtidos. As técnicas de análise multivariada podem ser utilizadas para avaliar a divergência entre acessos e para selecionar os descritores mais importantes na discriminação dos acessos de um banco de germoplasma (Amaral Júnior, 1994).

Pípolo et al. (2000), em estudo de divergência genética multivariada em aceroleira, conseguiram dividir 14 genótipos em três grupos, utilizando o método de agrupamento de Tocher, com base no caráter de qualidade do fruto mais importante para essa cultura, o teor de vitamina C. Esses autores destacam entre esses acessos alguns cruzamentos promissores.

Outros estudos de diversidade genética têm sido realizados utilizando técnicas de marcadores moleculares mostrando-se bastante promissores. Viana et al. (2003) estudaram a diversidade genética entre genótipos comerciais de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de passifloras nativas, determinadas por marcadores RAPD. Os autores realizaram análise de agrupamento entre os genótipos, adotando-se o complemento do índice de Jaccard e usaram, também, o método de agrupamento hierárquico de Ward, com base na matriz de distâncias genéticas obtida pelo complemento do índice de Jaccard. Foi observada para as espécies estudadas grande variabilidade genética.

Ruas et al. (1995) citaram a importância das estimativas da relação e da diversidade genética de cultivares de abacaxizeiro, para a avaliação de recursos genéticos. Esses autores encontraram uma relação genética bastante similar entre quatro cultivares de abacaxizeiro (Pérola, Smooth Cayenne, Primavera e Perolera) obtido a partir da análise das informações geradas por meio de marcadores moleculares RAPD e análises das características morfológicas e agronômicas. Assim, a combinação das análises moleculares com as avaliações morfoagronômicas pode ser usada de maneira eficiente para a caracterização de recursos genéticos no gênero *Ananas*.

Costa (2004) caracterizou a coleção de germoplasma de uva da UENF, avaliando a divergência genética entre 40 genótipos de espécies, variedades, porta-enxertos e híbridos, via marcadores moleculares RAPD. Para tanto, a autora utilizou técnicas de estatística multivariada, como o método de agrupamento de Tocher e o hierárquico (UPGMA), que foram concordantes.

Salla et al. (2002), analisando 24 acessos de aceroleiras pertencente ao banco ativo de germoplasma da Universidade Estadual de Londrina, detectaram alto polimorfismo entre os acessos. Os resultados demonstraram que apesar da base genética estreita, comum nas coleções de aceroleiras encontradas no Brasil, a variabilidade genética é relativamente alta.

2.8 Análise Multivariada

A análise multivariada, para avaliação de genótipos, baseada em caracteres quantitativos, parece ser o método ideal, considerando a existência de correlações entre esses caracteres. A partir dessa análise é possível que as informações de cada um dos caracteres se completem e a análise do conjunto resulte mais precisa do que as análises univariadas.

A utilização de técnicas multivariadas para estimar a divergência genética tem sido empregada rotineiramente pelos melhoristas de plantas. Entre essas práticas, as mais utilizadas são: a análise por componentes principais, quando os dados são obtidos de experimentos sem repetições; a análise por variáveis canônicas, quando os dados são obtidos de experimentos com repetições e, por último, os métodos de agrupamento, cuja aplicação depende da utilização de uma medida de dissimilaridade previamente estimada (Cruz & Regazzi, 1997), como, por exemplo, a distância euclidiana pode ser estimada tomando-se por base dados sem repetições, como é o caso de dados oriundos do banco ativo de germoplasma, tornando-se viável a sua aplicação (Carvalho et al., 2003).

O uso da análise multivariada em estudos sobre divergência genética tem sido assunto de extensas pesquisas, sendo empregadas na avaliação de diferentes coleções de germoplasma, visando a seleção de materiais superiores.

Existem, na literatura, diversos exemplos do emprego de técnicas multivariadas na análise de divergência genética em culturas, dentre esses, podem ser citados os realizados com *Capsicum* (Sudré et al., 2005), milho-pipoca

(Miranda et al., 2003), cacau (Dias & Kageyama, 1997), guaraná (Nascimento filho et al., 2001), algodão (Carvalho et al., 2003) e feijão (Coimbra et al., 1999; Rodrigues et al., 2002).

Lopes et al. (2000), avaliando a divergência genética de 112 acessos de aceroleiras provenientes do banco ativo de germoplasma da UFV, levando em consideração as características do fruto, encontraram seis acessos com características favoráveis, sendo esses indicados para avaliação clonal, além de cinco para uso em hibridização.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material Genético

Neste trabalho, utilizou-se 48 acessos (ACE 001 – ACE 048) de uma população de aceroleiras com idade de 15 anos, aproximadamente, oriundos do centro de produções de mudas da antiga CATI (Coordenadoria de Assistência Técnica Integral), localizado em São Bento do Sapucaí – SP, e semeados na Estação Experimental da Pesagro-RIO, localizada no município de Itaocara-RJ. O município de Itaocara localiza-se na região Noroeste fluminense, situado a 21° 39' 12" S e 42° 04' 36" W, com uma altitude de 60 m, clima do tipo AWi, com temperatura média anual de 22,5°C e precipitação média anual de 1041 mm (Fontes, 2002).

3.2 Caracterização Morfoagronômica

3.2.1 Descritores

A caracterização da população de aceroleiras da Pesagro foi realizada com base na relação de descritores mínimos para essa espécie (Oliveira et al., 1998). Devido à falta de frutificação inicial de alguns dos acessos, para este estudo, foi possível tabular apenas as informações referentes a caracteres vegetativos e de inflorescência para 38 acessos. Foram utilizados 26 descritores, sendo 17 qualitativos e nove quantitativos.

Os descritores relacionados à folha, flor e fruto estão descritos a seguir:

a) conformação da copa (CC). Determinada por meio de uma escala de notas, sendo: 1-globular; 2-intermediária; ou 3-Ereta.

b) ramificação da copa (RC). Determinada por escala de notas, sendo atribuído: 1-pouco ramificada; 2-ramificada; 3-muito ramificada.

c) textura foliar (TF). Escala de notas, sendo atribuídas: 1-coreácea ou 2-maleável

d) forma das folhas (FF). Determinada por escala de notas, sendo atribuído: 1-arredondada; 2-ovada; 3-elíptica.

e) forma geral dos bordos da folha madura (FGBF). Determinada por escala de notas, sendo atribuídas: 1- borda reta; 2- borda levemente ondulada; 3- borda ondulada.

f) forma geral do limbo foliar (FL). Determinada por escala de notas sendo atribuídas: 1- aberto; 2-intermediário; 3- fechado.

g) presença de pilosidade na folha (PF). Determinada indicando a presença ou ausência da pilosidade nas folhas.

h) presença de pilosidade no ramo (PR). Determinada indicando a presença ou ausência da pilosidade nos ramos.

i) tipo de florescimento (TFL). Determinado por escala de notas sendo atribuído: 1- flores isoladas; 2- presença de flores em panículas; 3- os dois tipos de florescimento.

j) coloração dos lóbulos da corola das flores (CLC). Determinada por escala de notas sendo atribuído: 1- coloração branca; 2- coloração rósea-clara; 3- coloração rósea escura; 4- coloração violácea.

l) uniformidade de maturação (UM). Determinado por escala de notas 1- uniforme; 2- desuniforme.

m) coloração da casca do fruto imaturo (CCFI). Determinada por escala de notas, sendo atribuídas: 1- verde; 2- verde amarelada; 3- verde arroxeadada; 4- roxa esverdeada; 5- roxa.

n) coloração da casca do fruto maduro (CCFM). Determinada por escala de notas, sendo atribuídas: 1- amarela; 2- laranja; 3- rosa; 4- vermelha; 5- vermelha arroxeadada; 6- roxa.

o) coloração da polpa do fruto maduro (CPFM). Determinada por escala de notas, sendo atribuídas: 1- alvacentas; 2- verde; 3- amarela; 4-rosa; 5- vermelha; 6- roxa.

p) textura da casca (TC). Determinada por escala de notas, sendo atribuídas: 1- lisa; 2- intermediária; 3- enrugada.

q) sulco da superfície do fruto (SSF). Determinada por escala de notas, sendo atribuídas: 1- superficial; 2- intermediária; 3- profundo.

r) tamanho do fruto maduro (TFM). Determinado por escala de notas, sendo atribuído: 1- fruto pequeno (12-16 mm); 2- fruto médio (17-22mm) ou 3- fruto grande (23-30mm).

Os descritores quantitativos foram os seguintes:

a) altura da planta (H): medida com uma trena, aferindo do nível do solo até a extremidade apical do ramo mais alto por meio de uma trena, expressa em metros.

b) diâmetro da planta (DP): medido a 100 cm do nível do solo, através do uso de uma trena, expressa em metros.

c) diâmetro do caule (DC): medido a 10 cm do nível do solo, através do uso de uma trena, expressa em centímetros.

d) comprimento da folha madura (CF): medidas da base da nervura central do lóbulo mediano até a extremidade, expressa em centímetros, utilizando a média de 20 folhas obtidas da parte mediana da copa.

e) largura máxima da folha (LF): feita utilizando a média de 20 folhas semelhante ao item anterior, espessa em centímetros.

f) número médio de flores por panículas (N^oMFP): foi feita uma amostragem em cada planta sendo feita a contagem em quatro quadrantes da mesma.

g) número médio de frutos por panículas (N^oFP): foi feita uma amostragem em cada planta sendo feita a contagem em quatro quadrantes da mesma.

3.2.2 Avaliação Física, Química e Físico-Química

Entre os acessos estudados 30% estavam vegetando. Dessa forma, foi necessário fazer uma seleção dos indivíduos que apresentassem frutos suficientes para as análises químicas e físicas. Vinte e cinco acessos foram

selecionados e avaliados, utilizando frutos coletados em três estádios de maturação.

Os caracteres físicos, químicos e físico-químicos estão descritos a seguir:

- Diâmetro do fruto (Diâm): média de 20 frutos ao acaso por acesso, sendo a medição do diâmetro máximo de cada fruto feita por meio de paquímetro e expressa em milímetros.

- Comprimento do fruto (Comp): média de 20 frutos ao acaso por acesso, sendo a medição do comprimento Máximo de cada fruto, feita por meio de paquímetro e expressa em milímetros.

- Coloração dos frutos ($L^*a^*b^*h^0$): a coloração foi avaliada por refratometria, com a média de 20 frutos, utilizando o aparelho digital Minolta Chroma MeterCR310, que a expresse conforme o sistema CILAB (L^*a^*b), de acordo com Wolf et al. (1997).

- Teor de sólidos solúveis (SS): média de 20 frutos por acesso escolhidos ao acaso. A medição de teor de sólidos solúveis foi feita por meio de refratômetro em amostras de suco extraído dos frutos (AOAC, 1970).

- Acidez total titulável (ATT): determinada a partir da neutralização da acidez da polpa da fruta, por titulação com NaOH 0,1N, conforme metodologia descrita pela A.O.A.C (1984)

- Teor de Vitamina C (Vit C): avaliado a partir da polpa macerada por titulação, com 2,6 diclorofenol-indofenol, conforme o método oficial da A.O.A.C (1970), utilizando cerca de um grama de fruto fresco macerado e expresso em mg de ácido ascórbico/ 100 g de polpa.

3.2.3 Análise estatística

Após as avaliações foi feita a análise estatística das características morfológicas por meio de recursos computacionais, com o auxílio do programa Genes (Cruz, 2006). Para os descritores qualitativos foi realizada análise de variáveis multicategóricas, tendo em vista que todas as variáveis estudadas apresentavam mais de duas características notadamente exclusivas. Para tanto, se utilizou como medida de dissimilaridade o coeficiente de Jaccard.

Para os caracteres quantitativos e avaliações físicas e químicas foi utilizado o método dos componentes principais a partir de dados padronizados e a importância relativa dos caracteres. A técnica de componentes principais foi

adotada porque se baseia apenas nas informações individuais de cada acesso, sem necessidade de dados com repetições (Cruz e Regazzi, 2001), tendo sido coletados 20 frutos de cada planta, de onde se obteve uma média desses indivíduos.

Para representar as relações entre os acessos e caracterizar a diversidade, distâncias Euclidianas foram calculadas sobre as variáveis, as quais permitiram a construção de dendrogramas hierárquicos, utilizando o método do UPGMA e método de otimização de Tocher.

3.3 Análise por marcadores moleculares

3.3.1 Extração de DNA

A extração do DNA foi feita a partir de folhas jovens de aceroleira, coletadas na estação experimental da Pesagro - Rio. Ramos de 10-15 cm de comprimento foram coletados a partir do ápice da planta, embalados em papel alumínio, colocados em sacos de plástico individuais devidamente identificados e imediatamente acondicionados em recipiente de isopor contendo gelo picado para a manutenção de sua integridade. Esse material foi transportado para o setor de Marcadores Moleculares do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal – CCTA/UENF. No laboratório, as folhas utilizadas como amostras foram congeladas em N₂ líquido e maceradas em almofariz de porcelana, previamente resfriado para evitar a elevação da temperatura e conseqüentemente desnaturação das enzimas. O protocolo adotado para extração foi adaptado a partir do método de CTAB (Cethyltrimethylammonium Bromide, Sigma), no tampão de extração, descrito por Doyle & Doyle (1987).

Aproximadamente, 50mg de tecido macerado foram transferidos para tubos com capacidade de 1,5 mL e imersos em N₂ líquido. Foram adicionados a cada tubo, 800µL do tampão de extração pré-aquecido, contendo a solução preparada com 2% CTAB, 1,4M NaCl, 20mM EDTA, 100mM Tris-HCl (pH 8,0), 1% PVP e 0,2% B-mercaptoethanol, sendo posteriormente incubado a 65°C por 40 minutos, com agitação suave dos tubos a cada 10 minutos. Após essa etapa, foi feita a centrifugação a 14000 RPM, por 5 minutos. Uma fração do sobrenadante (800µl) foi transferida para novos tubos, onde foram adicionados 800µL de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1), seguindo-se, então, de inversão contínua, dos tubos até a

solução tornar-se túrgida. Essa etapa foi repetida mais uma vez. Após nova centrifugação a 14000 RPM por 5 minutos, o sobrenadante foi transferido para novos tubos, onde foi adicionado dois terços do volume de isopropanol gelado, seguindo-se de suave inversão e posteriormente repouso em ultrafreezer a - 80 °C, por 30 minutos. Novamente foi feita a centrifugação a 14000 RPM, por 10 minutos, obtendo-se um "pellet". Esse foi lavado duas vezes com 300µL de etanol 70%, para a retirada de sal presente, e mais uma vez com 300µL de etanol 95% (entre cada lavagem, o material foi centrifugado a 14000 RPM, durante 10 minutos). Após o descarte do último sobrenadante, o material foi desidratado em condições naturais por, aproximadamente, 30 minutos. O precipitado foi ressuspenso em 300µL de solução Tris-EDTA (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8,0) com RNase numa concentração final de 40 µg/ml e incubado em banho-maria a 37°C, por 30 minutos. Em seguida, foram feitas adição de 20 µL de NaCl 5M e 150 µL de isopropanol gelado, para precipitar o DNA novamente, incubando-se essa mistura a -80 °C, por 30 minutos. Após essa etapa o DNA foi sedimentado por centrifugação, a 14.000 RPM, por 10 minutos e lavado, duas vezes, com etanol a 70%, e, uma vez, com etanol a 95%. Após a desidratação, o precipitado final foi suspenso em 300µL de água.

3.3.2 Quantificação do DNA

A quantificação do DNA foi realizada por meio de análise visual comparativa em gel de agarose submetidos à eletroforese (100V, por 90 minutos). O gel foi preparado com agarose na concentração de 0,8% (p/v), TAE 0,5 X (Tris base, acetato de sódio, EDTA a 0,5M e água destilada) e 4 µL de brometo de etídio (10 mg/ml). No gel foram aplicados solução de 2-µL de DNA de cada genótipo, 3-µL de corante Blue Juice e 5-µL de solução TE. Foi utilizado o DNA padrão, High DNA MASS Ladder (INVITROGEN), para efeito de comparação entre o tamanho dos fragmentos. Após a eletroforese, o gel foi exposto à luz ultravioleta e imediatamente fotografado no equipamento Eagle Eye II (Stratagene). Posteriormente, o DNA foi diluído para as concentrações adequadas, que foram utilizadas nas reações de RAPD.

3.3.3 Ensaio de Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (RAPD)

Após a quantificação, as reações de amplificação dos fragmentos de DNA foram feitas em termociclador modelo Martercycler gradient (Eppendorf), num volume final de 20 µL, contendo: 10,80 µL de água ultrapura; 2 µL de tampão de amplificação (100 mM Tris-HCl pH 8,3, 50 mM KCl); 1,60 µL de MgCl₂ (25 mM); 1,0 µL de DNTPs (2 mM de cada um dos desoxiribonucleotídeos dATP, dTTP, dCTP, dGTP); 2,0 µL de iniciador (5 mM); 2,0 µL de DNA genômico (10 ng) e 0,6 unidade de Taq de DNA polimerase. Foram adicionados aos microtubos 2,0 µL de DNA e, paralelamente, preparado um mix contendo todos os demais reagentes nas concentrações mencionadas, onde em cada mix foi adicionado um iniciador diferente. Dessas soluções, foram retiradas 18 µL e adicionados aos microtubos, totalizando os 20 µL da reação.

Foi utilizado o termociclador Perkin Elmer GeneAmp PCR System, programados para 45 ciclos de amplificação após desnaturação inicial de 95 °C por um minuto. Individualmente, cada ciclo consistiu de 1 minuto a 95 °C, 1 minuto a 36°C e 2 minutos a 72 °C. Depois dos 45 ciclos promoveu-se etapa final para extensão de 7 minutos a 72 °C.

Após as reações, os fragmentos amplificados foram submetidos à corrida de eletroforese (100 v por 90 minutos) em gel de Agarose a 2% (p/v), utilizando o tampão TAE 0,5 X. Para efeito de comparação de tamanho dos fragmentos amplificados, foi utilizado como padrão o DNA Ladder 250 bp, adquirido da INVITROGEN Life Technologies.

3.3.4 Seleção de iniciadores

Com o objetivo de selecionar os iniciadores mais informativos, foi feita uma triagem, utilizando amostras de quatro acessos, aleatoriamente, com base na relação de descritores mínimos para aceroleira (Oliveira et al., 1998). Foram testados vários iniciadores da Operon Technologies, e escolhidos apenas os iniciadores que apresentarem bandas nítidas e com maior número de polimorfismo entre os genótipos testados. Após a seleção, cada acesso,

individualmente, foi testado com os iniciadores para avaliar o polimorfismo de DNA, com o propósito de selecionar aqueles que amplificassem simultaneamente para todos os genótipos.

3.3.5 Análise estatística dos marcadores RAPD

Para a análise dos resultados foram utilizados os recursos computacionais do programa Genes (Cruz, 2006).

A análise estatística foi feita com base na matriz de dados binários, formada por meio da análise dos géis de RAPD, nos quais a presença de banda foi atribuído o valor 1, enquanto na ausência dessa foi atribuído o valor zero. A distância genética foi calculada aos pares entre os genótipos, pelo complemento

aritmético do índice de Jaccard, cuja expressão é: $C_{ij} = 1 - \frac{a}{a+b+c}$, em que:

a= número de bandas presentes nos acessos i, j.

b= número de bandas presentes no acesso i e ausentes no acesso j.

c= número de bandas presentes no acesso j e ausentes no acesso i.

3.3.6 Métodos de Agrupamento

Com base na tabela de dados binários resultantes, foi realizada a análise da divergência genética dos 48 acessos de aceroleira, utilizando a matriz de distâncias, com base no complemento aritmético do índice de Jaccard, que foi utilizada para o agrupamento dos genótipos pelos métodos de Otimização de Tocher. Esse método adota o critério de que a média das medidas de dissimilaridade dentro de cada grupo deve ser menor que as distâncias médias entre quaisquer grupos (Cruz, 2006). Para se obter o dendrograma, foi utilizado o método hierárquico UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização Morfoagronômica

4.1.1 Caracterização Morfoagronômica – caracteres qualitativos

Os dados referentes a características qualitativas dos 38 acessos estão apresentados na Tabela 1. Os resultados obtidos a partir da análise de variáveis multicategóricas dos acessos de aceroleira evidenciam a existência de variabilidade genética em 70,5% dos caracteres estudados. Entre os 17 caracteres avaliados, não se observou variabilidade em cinco características, quais sejam, textura foliar (TF), presença de pilosidade nas folhas (PF), presença de pilosidade nos ramos (PR), tipo de florescimento (TFL) e uniformidade de maturação (UF). Em todos os acessos avaliados, a PR apresentou-se de forma maleável, não foi detectadas PR nem PF, as flores apresentaram TFL isolado e não houve UF entre os acessos para a maturação dos frutos.

Tabela 1- Notas referentes aos 12 descritores qualitativos em 38 acessos de aceroleiras. **CC** = conformação da copa (1-globular; 2-intermediária; 3-Ereta); **RC** = ramificação da copa (1-Pouco ramificada; 2-ramificada; 3-muito ramificada); **FF**

Acessos	CC	RC	FF	FGBF	FL	CLC	CCFI	CCFM	CPFM	TC	SSF	TFM
ACE 001	3	3	3	3	1	2	1	6	5	1	1	2
ACE 002	3	1	3	3	2	2	1	5	3	3	3	2
ACE 004	1	1	3	1	1	3	3	4	3	1	1	2
ACE 005	1	3	3	2	2	3	1	5	4	1	1	3
ACE 007	3	3	2	3	1	2	1	5	5	3	1	2
ACE 008	1	3	3	3	2	3	1	5	5	1	3	3
ACE 009	2	3	2	3	2	1	1	4	3	1	2	3
ACE 010	3	3	2	3	1	1	1	4	3	1	1	2
ACE 011	3	2	3	2	1	2	1	4	3	1	2	2
ACE 012	3	3	3	3	2	3	1	4	3	3	2	2
ACE 014	3	3	3	3	2	2	1	4	3	3	2	2
ACE 016	2	3	3	3	1	3	1	6	5	1	1	3
ACE 017	1	3	3	3	2	3	1	5	3	3	2	3
ACE 018	2	3	2	2	2	3	1	5	3	1	1	3
ACE 020	3	3	3	3	1	1	1	5	3	1	2	2
ACE 021	1	3	3	3	2	3	3	4	3	1	2	2
ACE 022	1	3	2	3	2	3	3	5	3	3	2	3
ACE 024	2	3	2	2	1	3	1	6	5	1	1	3
ACE 025	1	3	3	3	2	2	1	4	3	1	1	1
ACE 026	3	3	3	3	2	2	1	5	3	1	1	2
ACE 027	2	3	2	3	2	3	3	6	5	1	2	3
ACE 028	1	3	3	3	2	3	1	4	3	1	1	3
ACE 029	1	3	2	3	2	3	1	4	3	3	2	2
ACE 030	2	3	3	3	2	3	1	5	3	1	2	3
ACE 031	1	3	2	3	2	3	1	4	3	3	1	3
ACE 034	3	3	3	3	1	3	1	4	3	1	2	2
ACE 035	3	3	3	3	2	3	1	4	5	1	1	2
ACE 036	3	3	3	3	2	1	1	4	3	1	1	3
ACE 037	1	3	3	3	2	3	1	4	3	3	2	3
ACE 038	3	3	3	3	2	3	3	5	3	3	1	2
ACE 039	3	3	3	3	2	2	1	4	3	3	1	2
ACE 042	2	3	3	3	2	1	1	4	3	3	2	2
ACE 043	2	3	3	3	2	3	1	4	3	1	1	2
ACE 044	1	3	3	3	1	3	3	4	3	3	1	3
ACE 045	1	3	2	3	1	3	3	5	3	1	1	3
ACE 046	3	3	3	3	2	3	3	5	3	1	1	3
ACE 047	2	3	3	3	2	1	1	5	3	1	2	2
ACE 048	3	3	3	3	2	3	3	4	3	1	1	2

= forma das folhas (1-arredondada; 2-ovada; ou 3-elíptica); **FGBF** = forma geral dos bordos da folha madura (1- borda reta; 2- borda levemente ondulada; 3- borda ondulada); **FL** = forma geral do limbo Foliar (1- aberto; 2-intermediário; 3- fechado); **CLC** = coloração dos lóbulos da corola das flores (1- coloração branca; 2- coloração rósea-clara; 3- coloração rósea escura; 4- coloração violácea); **CCFI** = coloração da casca do fruto imaturo (1- verde; 2- verde amarelada; 3- verde arroxeadada; 4- roxa esverdeada; 5- roxa); **CCFM** = coloração da casca do fruto maduro (1- amarela; 2- laranja; 3- rosa; 4- vermelha; 5- vermelha arroxeadada; 6- roxa); **CPFM** = coloração da polpa do fruto maduro (1- alvacenta; 2- verde; 3- amarela; 4-rosa; 5- vermelha; 6- roxa); **TC** = textura da casca (1- lisa; 2- intermediária; 3- enrugada); **SSF** = sulco da superfície do fruto (1- superficial; 2- intermediária; 3- profundo); **TFM** = tamanho do fruto maduro (1- fruto pequeno (12-16 mm); 2- fruto médio (17-23mm); 3- fruto grande (24-30mm)).

O descritor conformação da copa apresentou 16 acessos com a forma ereta, ou seja, 42,00% do total de indivíduos apresentam crescimento da copa vertical para cima.

Para o descritor ramificação da copa, com exceção dos indivíduos ACE 002 e ACE 004, que são ramificados, e ACE 011, que é pouco ramificado, todos os outros acessos apresentaram a copa muito ramificada. Em termos percentuais, cerca de 92,66% dos acessos de aceroleiras da Pesagro-Rio apresentaram esse tipo de ramificação.

Quanto à forma da folha, não foi encontrado nenhum indivíduo com folha arredondada, entretanto a maioria dos acessos apresentou folha do tipo elíptica (73,68%), ou do tipo ovada (26,32%).

Com relação à forma geral dos bordos da folha, houve uma predominância de borda ondulada (33 indivíduos), totalizando 86,84% da população. Houve apenas um indivíduo com a borda reta (ACE 004).

No que se refere à forma geral do limbo foliar, não foi encontrado nenhum acesso com o tipo fechada. Mais da metade dos acessos apresentaram a forma intermediária (71,05%), enquanto que 28,95% dos acessos apresentaram forma do tipo aberta.

A coloração dos lóbulos da corola das flores variou de coloração branca a coloração rósea escura, não sendo identificado entre os acessos, coloração violácea para a os lóbulos da corola das flores.

Não foi observada variação significativa entre a coloração da casca do fruto imaturo, visto que apenas duas cores foram encontradas entre todos os acessos estudados. Grande parte dos acessos (72,30%) apresentou coloração da casca verde arroxeadada e o restante (23,70%) apresentaram cor verde.

Para a coloração da casca do fruto maduro foi observada a maior diversidade entre os acessos. A cor predominante foi a vermelha, com 57,89% dos indivíduos, seguida por vermelha arroxeadada, com 31,57% dos indivíduos, e roxa, com 10,58% dos indivíduos.

A coloração da polpa do fruto maduro foi, na maioria dos acessos, predominantemente amarela (78,95%). Houve sete indivíduos que apresentaram a coloração vermelha (18,45%) e apenas um com a coloração rosa (2,6%).

A textura da casca da maioria dos frutos foi, lisa (65,78%) e o restante foi enrugada (37,22%). Não foi observado, entre os acessos, nenhum genótipo com a textura intermediária.

O descritor sulco do fruto maduro apresentou as três formas, sendo que 21 indivíduos tinham forma superficial (55,26%), 15 indivíduos tinham forma intermediária (39,47%) e apenas dois indivíduos apresentaram forma profunda (5,26%).

Para o descritor tamanho do fruto maduro, foi possível observar os três tipos de tamanho. Mais da metade dos acessos apresentaram frutos de tamanho médio (55,26%). O ACE 002 foi o único que apresentou tamanho pequeno e o restante dos acessos apresentaram frutos de tamanho do tipo grande (41,80%).

4.1.2 Caracterização Morfoagronômica – caracteres quantitativos

Os resultados da avaliação dos caracteres quantitativos aplicados aos acessos de aceroleira estão apresentados na Tabela 2. Foi detectada ampla variabilidade entre os acessos.

Tabela 2 - Médias dos 38 acessos para nove descritores quantitativos utilizados para acerola.

Acessos	H (m)	DP (m)	DC (cm)	CF (cm)	LF (cm)	NºMFP	NºFP	D (mm)	C (mm)
ACE 001	3,50	4,00	49,00	56,75	27,50	4,00	4,00	22,87	20,47
ACE 002	3,60	2,20	42,00	50,50	19,50	4,00	4,00	19,42	16,67
ACE 004	2,00	2,52	21,00	53,50	26,65	4,00	4,00	26,22	23,06
ACE 005	2,80	3,20	44,00	52,50	28,00	7,00	4,00	26,07	23,20
ACE 007	4,00	3,30	45,00	42,00	38,50	6,00	4,00	21,03	20,00
ACE 008	3,50	4,90	48,00	45,00	34,00	3,00	3,00	27,24	24,54
ACE 009	4,10	3,40	48,00	53,00	34,00	5,00	4,00	24,17	22,25
ACE 010	4,20	2,20	36,00	62,00	48,00	4,00	3,00	22,11	19,82
ACE 011	3,90	3,40	39,00	52,00	31,00	4,00	4,00	22,07	16,67
ACE 012	3,40	3,30	41,00	54,00	34,00	5,00	4,00	26,73	22,40
ACE 014	3,30	2,60	32,00	61,00	31,00	4,00	4,00	22,60	20,47
ACE 016	2,40	2,10	20,00	46,00	24,00	4,00	2,00	24,13	20,71
ACE 017	2,10	2,35	19,00	45,00	23,00	6,00	4,00	26,71	21,93
ACE 018	3,40	4,00	38,00	70,00	45,00	5,00	4,00	25,47	21,93
ACE 020	2,30	1,80	30,00	38,00	27,00	4,00	4,00	22,42	20,08
ACE 021	1,70	3,10	18,00	46,00	22,00	4,00	2,00	26,82	22,13
ACE 022	2,40	3,10	18,00	56,00	37,00	6,00	3,00	27,93	23,79
ACE 024	3,70	3,30	39,00	49,00	30,00	6,00	6,00	24,14	20,25
ACE 025	1,80	2,10	26,00	35,00	21,00	3,00	2,00	23,12	19,18
ACE 026	4,40	3,00	33,00	53,00	23,00	3,00	3,00	21,17	18,53
ACE 027	3,90	3,40	48,00	68,00	34,00	6,00	4,00	25,30	21,43
ACE 028	3,30	3,80	40,00	48,00	25,00	6,00	4,00	25,75	21,75
ACE 029	3,00	4,80	31,00	50,00	32,00	6,00	3,00	24,47	21,69
ACE 030	3,50	4,90	49,00	43,00	30,00	6,00	4,00	23,43	20,07
ACE 031	2,30	4,00	25,00	41,00	27,00	6,00	4,00	23,80	20,10
ACE 034	3,70	4,10	55,00	56,00	40,00	6,00	5,00	23,73	20,20
ACE 035	3,90	2,80	40,00	58,00	34,00	5,00	4,00	22,17	19,00
ACE 036	1,90	1,50	17,00	43,00	20,00	3,00	3,00	23,42	21,25
ACE 037	3,10	3,10	40,00	50,00	19,00	6,00	4,00	23,75	19,00
ACE 038	1,80	1,90	14,00	36,00	23,00	5,00	4,00	21,71	18,86
ACE 039	2,70	2,80	37,00	46,00	27,00	6,00	3,00	21,70	18,07
ACE 042	2,20	2,20	50,00	47,00	20,00	3,00	2,00	24,67	19,00
ACE 043	2,30	2,70	20,00	52,00	24,00	6,00	4,00	24,97	20,35
ACE 044	3,20	3,10	55,00	47,00	24,00	6,00	2,00	26,25	21,89
ACE 045	3,60	3,20	58,00	47,00	31,00	6,00	3,00	25,97	20,90
ACE 046	3,40	4,60	45,00	37,00	24,00	7,00	3,00	26,07	22,50
ACE 047	2,60	2,70	37,00	42,00	25,00	3,00	3,00	22,18	19,29
ACE 048	2,30	1,70	22,00	41,00	20,00	4,00	3,00	22,80	19,90

H(m)= altura da planta; DP (m)= diâmetro da planta; DC (cm) = diâmetro do caule; CF (cm) = comprimento da folha madura; LF (cm) = largura máxima da folha; NºMFP = número médio de flores por panículas; NºFP = número médio de frutos por panículas; D (mm) = diâmetro de fruto; C (mm) = comprimento de fruto.

A altura das plantas variou de 1,70 m a 4,40 m. O acesso ACE 026 apresentou a maior altura de planta (4,40 m), seguido dos acessos ACE 010 (4,20 m) e ACE 009 (4,10 m). As menores alturas encontradas ocorreram entre os acessos ACE 021 (1,70 m), ACE 025 e ACE 039 ambos, com 1,80 m e ACE 035 (1,90 m).

Para a característica diâmetro do caule, dois acessos apresentaram o mesmo comprimento, destacando-se como os maiores: o acesso ACE 008 e o ACE 030, ambos com 4,90 m. O segundo maior comprimento foi observado no acesso ACE 029, apresentando 4.80 metros. Além de baixa altura (1,90 m) o acesso ACE 36 foi o que, entre todos, apresentou o menor diâmetro do caule com 1,50 metros.

Três acessos se destacaram com o mesmo diâmetro do caule, ACE 008, ACE 009 e ACE 027, todos com 48,00 centímetros. Entretanto, foram os acessos ACE 001 e ACE 030 que apresentaram os maiores diâmetros, com 49,00 centímetros.

O acesso ACE 018 se destacou com o maior comprimento de folha (70 cm) e a segunda maior largura máxima foliar (45,00 cm). O acesso ACE 010 foi o destaque para a variável largura máxima foliar, apresentando 48,00 cm e o terceiro maior comprimento foliar, apresentando 62,00 centímetros. O menor valor foi encontrado no acesso ACE 037 (19,00 cm) e no acesso ACE 002 (19,50 cm).

Dois acessos apresentaram uma média de sete folhas por panículas, culminando em quatro frutos no final da frutificação. Esses acessos foram os ACE 005 e o ACE 046. A maioria dos acessos apresentou entre três e seis folhas por panículas. Os acessos ACE 016, ACE 021, ACE 042 e ACE 044 foram os que apresentaram menor número de frutos por panícula com apenas dois frutos cada.

Vários acessos apresentaram diâmetro de fruto na faixa de 26,00 milímetros (ACE 004, ACE 005, ACE 012, ACE 017, ACE 021, ACE 044 e ACE 046). Em adição, o maior diâmetro foi observado no acesso ACE 022, com o valor de 27,92 milímetros. O menor diâmetro e comprimento do fruto foram encontrados para o acesso ACE 002, com 19,42 e 16,67 milímetros, respectivamente. Esses resultados são satisfatórios, tendo em vista que, de acordo com Instituto Brasileiro de Frutas (IBRAF,1995), dentre os critérios de qualidade estabelecidos para acerola, os frutos para serem aceitos pelas indústrias de transformação devem ter diâmetro mínimo de 15 mm. Todos os acessos estudados superaram esse padrão.

4.2 Componentes Principais

Os resultados obtidos para os componentes principais, os autovalores e as percentagens da variância explicada pelos componentes obtidos a partir de nove características quantitativas são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Estimativas das variâncias (autovetores, raiz), porcentagem acumulada de nove descritores quantitativos, avaliados em 38 acessos de aceroleira da Pesagro-Rio.

Componente principal (CP)	Raiz	Raiz (%)	% Acumulada
CP1	3,26	36,24	36,24
CP2	2,15	23,86	60,10
CP3	1,12	12,52	72,63
CP4	1,02	11,39	84,02
CP5	0,45	5,03	89,06
CP6	0,41	4,56	93,62
CP7	0,30	3,43	97,05
CP8	0,17	1,98	99,04
CP9	0,86	0,95	100,00

Em estudos de divergência genética entre um grupo de genótipos, é desejável que a variância acumulada nos dois primeiros componentes principais exceda a 80% (Cruz & Regazzi, 1994). Contudo, pelos resultados obtidos, a variância acumulada entre os componentes não demonstrou distribuição concentrada nos dois primeiros componentes. Nesse estudo, constatou-se que somente a partir dos quatro primeiros componentes foi possível acumular uma porcentagem satisfatória, com 84,07% da variabilidade total dos acessos. O primeiro componente explica 36,24%, o segundo 23,86%, o terceiro 12,52% e o quarto 11,39% da variação total. Os demais componentes absorveram juntos apenas 15,97%.

Martinello et al. (2003), estudando a divergência genética em acessos de quiabeiro, com base em 13 caracteres morfológicos quantitativos, encontraram resultados similares ao observado neste trabalho. Os autores concluíram que foram necessários quatro componentes, para que a variância por eles explicada atingisse um mínimo de 80%. Para os autores, esses dados são indicativos de uma dispersão, de forma mais eqüitativa, da variância total, nos caracteres avaliados.

Rosa et al. (2006), realizando caracterização agromorfológica em *Oryza Glumaepatula*, com o auxílio das análises de componentes principais, utilizando 15 caracteres, observaram que apenas os dois primeiros componentes (57,8%) não foram suficientes para explicar a variância total. Foi necessário utilizar a variância acumulada pelos quatro primeiros componentes para que alcançassem 84,9% da variação total observada. Houve grande variabilidade e diferenciação para caracteres morfológicos e agrônômicos entre populações de *O. glumaepatula* provenientes de diferentes bacias hidrográficas brasileiras.

A análise de componentes principais permite realizar o descarte de variáveis, eliminando assim, aquelas que oferecem pouca contribuição no estudo de divergência. Assim, para o descarte de variáveis, adotou-se a recomendação de Jolliffe (1973), pela qual o número de variáveis descartadas deveria ser igual ao número de componentes cuja variância (autovalor) fosse inferior a 0,7. Dentre os nove componentes principais cinco (55,5% dos caracteres) apresentaram variância inferior ao autovalor estabelecido. Desse modo, as variáveis que apresentaram maiores coeficientes, a partir do último componente principal, foram passíveis de descarte. Essas foram altura, diâmetro da planta, número médio de folhas por panículas, número de frutos por panículas e diâmetro do fruto.

4.3 Importância Relativa dos caracteres

Utilizando método de Singh (1981), foi determinado, que entre as nove características quantitativas estudadas, três contribuíram com 96,03% para a divergência genética, enquanto seis características contribuíram com apenas 3,97%. O caráter diâmetro do caule demonstrou a maior contribuição relativa (54,12%) em relação aos caracteres quantitativos, seguidos do comprimento da folha madura (24,00%) e largura máxima da folha (17,19%), como podem ser vistos na Tabela 4.

Tabela 4 - Importância relativa de nove características quantitativas avaliadas em 38 acessos de acerola obtidas pelo método de Singh (1981).

Variável	S.j	Valor em %
H	849,76	0,218
DP	1127,78	0,289
DC	211013,0	54,128
CF	93595,81	24,009
LF	69841,03	17,915
NºMFP	2157,0	0,553
Nº	1044,0	0,267
D	5723,97	1,468
C	4483,90	1,150

H = altura da planta; DP = diâmetro da planta; DC = diâmetro do caule; CF = comprimento da folha madura; LF = largura máxima da folha; NºMFP = número médio de flores por panículas; NºFP = número médio de frutos por panículas; D = diâmetro de fruto; C = comprimento de fruto.

Dentre os nove descritores estudados, apenas três (33,33%) foram selecionados como os mais importantes para estudo de diversidade genética entre acessos de aceroleira.

Blank et al. (2004), estudando a caracterização morfológica e agronômica de acessos de manjeriço e alfavaca, perceberam que houve uma grande diversidade entre os acessos, utilizando os descritores diâmetro do caule, comprimento da folha e largura da folha, mostrando que os mesmos podem ser sempre utilizados em estudos de caracterização.

Daher et al. (1997), em estudo da divergência genética entre acessos de capim-elefante, utilizaram a técnica de componentes principais e observaram que, de um total de 22 caracteres avaliados em três anos, apenas oito (36,4%) foram selecionados como os mais importantes para determinação da divergência genética.

4.4 Métodos de Agrupamento

4.4.1 Método de Otimização de Tocher

A análise de agrupamento pela técnica de Tocher (Tabela 5), com base na matriz de dissimilaridade fundamentada na distância euclidiana média, revelou o aparecimento de 13 grupos.

Tabela 9 - Grupos de acessos estabelecidos pelo método de Tocher, com base na dissimilaridade genética entre nove descritores quantitativos para 38 acessos de aceloreira.

Grupos	Acessos
I	ACE 036 (28), ACE 048 (38), ACE 016 (12), ACE 025 (19), ACE 020 (15), ACE 047 (37), ACE 038 (30)
II	ACE 017 (13), ACE 043 (33), ACE 004 (03), ACE 031 (25), ACE 028 (22), ACE 005 (04), ACE 012 (10), ACE 037 (29), ACE 029 (23)
III	ACE 014 (11), ACE 035 (27), ACE 001 (01), ACE 009 (07), ACE 027 (21), ACE 034 (26), ACE 011 (09), ACE 007 (05), ACE 030 (24)
IV	ACE 044 (34), ACE 045 (35), ACE 046 (36)
V	ACE 002 (02), ACE 023 (20)
VI	ACE 039 (31)
VII	ACE 042 (32)
VIII	ACE 010 (08)
IX	ACE 024 (18)
X	ACE 021 (16)
XI	ACE 018 (14)
XII	ACE 008 (06)
XIII	ACE 022 (17)

O primeiro grupo foi constituído de sete indivíduos. Foi nesse grupo que se enquadrou o acesso com o menor diâmetro da planta, 1.50 m (ACE 036). Além desse, apareceram também os acessos ACE 048 (38), ACE 016 (12), ACE 025 (19), ACE 047 (37), ACE 020 (15) e o ACE 038 (30). O segundo e o terceiro grupo foram os mais numerosos, formados por nove materiais cada. No grupo II estavam os acessos 13, 33, 25, 22, 04, 10, 29 e 23. O grupo III constou os acessos 11, 27, 01, 07, 21, 26, 09, 05 e 24. O grupo IV constou três acessos, sendo esses, o 34, 35 e 36 enquanto o grupo V apresentou dois acessos, o 02 e 20.

Para os demais grupos (VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII e XIII), todos apresentaram apenas um acesso cada um, 31, 32, 08, 18, 16, 14, 06 e 17, respectivamente. O principal destaque foi o grupo XIII, com o acesso 17 (ACE 022), que foi o detentor do maior diâmetro de fruto entre todos os outros acessos.

A característica quantitativa que mais contribuiu para a formação dos grupos pela análise de Tocher foi o diâmetro do caule. Isso pode ser afirmado, uma vez que os acessos que possuíam tamanhos similares desse descritor formavam grupos, e, entre os grupos, esses tamanhos eram distintos.

4.4.2 Método hierárquico UPGMA

Com base nos dados gerados pela matriz de dissimilaridade, obteve-se o dendrograma com os agrupamentos constantes na Figura 1, por meio do método de agrupamento UPGMA, onde, no eixo Y, estão representadas as percentagens das distâncias entre os acessos e, no eixo X, estão representados os 38 acessos, com base em nove características quantitativas. Os métodos de agrupamento hierárquicos permitem o estabelecimento de grupos, de tal forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre grupos. Para decidir o número de grupos formado no dendrograma, adotou-se um ponto de corte, no local de mais alta mudança de nível (90%). Esse corte resultou na formação de 13 grupos: grupo I (acessos 20, 09, 02, 27, 11 e 01); grupo II (acessos 36, 35, 34, 10, 07, 22 e 04); grupo III (acessos 25 e 23); grupo IV (acessos 31 e 29); grupo V (acesso 26 e 18); grupo VI (acessos 24 e 05); grupo VII (acessos 08); grupo VIII (acessos 21 e 14); grupo IX (acesso 33, 13 e 03); grupo X (acesso 17); grupo XI (acesso 16); grupo XII (acessos 37, 32, 30, 15, 19, 18, 38, 28 e 12) e grupo XIII (acessos 06).

Comparando o método de otimização de Tocher com o agrupamento hierárquico UPGMA, detectou-se parcial concordância nos resultados. Verificou-se que, tanto no método de Tocher como UPGMA, os acessos 37, 38, 30, 28, 19, 15 e 12 ficaram no mesmo grupo. Os acessos 6, 8, 16 e 17 apresentaram-se isolados em ambos os agrupamentos. Sudré et al. (2006), estudando a divergência genética entre acessos de pimenta, encontraram resultados similares, pois houve concordância parcial entre os dois métodos de agrupamento.

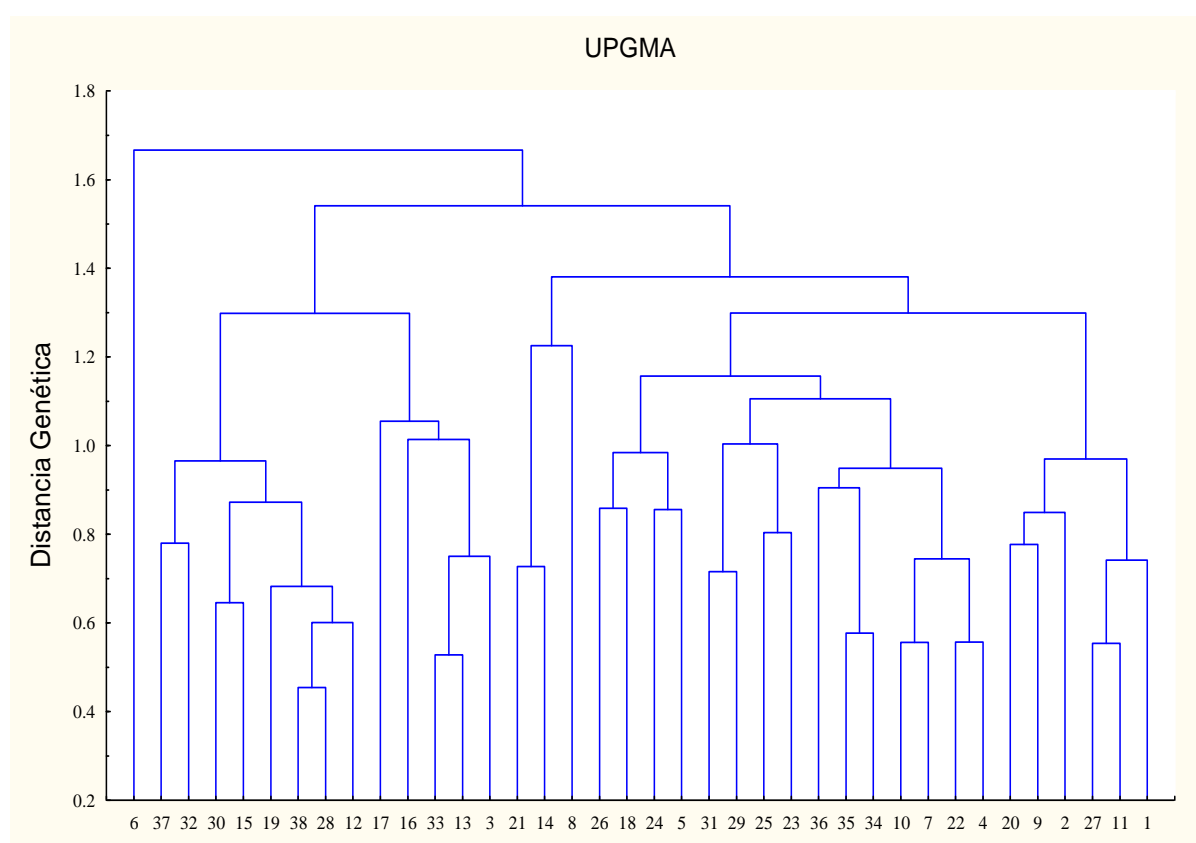


Figura 1 - Dendrograma estabelecido do padrão de dissimilaridade quantificado pelo UPGMA, de 38 acessos de aceroleira.

4.4.3 Variáveis Multicategóricas

Pelo método de otimização de Tocher, baseados na distância média Euclidiana, detectou-se a formação de 10 grupos. O grupo I agregou 42,10% dos acessos e os outros acessos foram distribuídos nos grupos restantes (Tabela 6). Nesse grupo, todos os acessos apresentaram copa muito ramificada, forma geral dos bordos das folhas onduladas e forma geral do limbo foliar intermediária.

Tabela 6 - Grupos de acessos estabelecidos pelo método de Tocher, com base na dissimilaridade genética entre os 17 descritores qualitativos para aceroleira.

Grupos	Acessos
I	ACE 012 (10), ACE 014 (11), ACE 039 (31), ACE 029 (23), ACE 037 (29), ACE 017 (13), ACE 031 (25), ACE 028 (22), ACE 043 (33), ACE 021 (16), ACE 034 (26), ACE 048 (38), ACE 035 (27), ACE 036 (28), ACE 025 (19)
II	ACE 016 (12), ACE 024 (18), ACE 001 (01)
III	ACE 020 (15), ACE 047 (37), ACE 023 (20), ACE 030 (24), ACE 046 (36), ACE 038 (30)
IV	ACE 005 (04), ACE 008 (06), ACE 018 (14)
V	ACE 022 (17), ACE 045 (35), ACE 044 (34)
VI	ACE 007 (05), ACE 010 (08)
VII	ACE 009 (07), ACE 027 (21)
VIII	ACE 011 (09)
IX	ACE 002 (02)
X	ACE 004 (03)

Os grupos II (acessos ACE 016, ACE 024, ACE 001), IV (acessos ACE 005, ACE 008, ACE 018) e V (acessos ACE 022, ACE 045, ACE 044) agregaram três acessos cada um.

Todos os acessos do grupo II apresentaram forma geral do limbo Foliar do tipo aberta, coloração da casca do fruto imaturo do tipo verde, coloração da casca do fruto maduro do tipo roxa, coloração da polpa do fruto maduro do tipo alvacenta e sulco da superfície do fruto superficial.

Para o grupo IV, os acessos foram homogêneos em relação a forma geral do limbo foliar, todos intermediários, coloração dos lóbulos da corola das flores rósea-clara, coloração da casca do fruto imaturo do tipo verde, coloração da casca do fruto maduro do tipo vermelha arroxeadada, textura da casca lisa e frutos de tamanho grande.

Os acessos do grupo V apresentaram conformação da copa globular, copa muito ramificada, forma geral dos bordos da folha madura ondulada, coloração

dos lóbulos da corola das flores rósea escura, coloração da casca do fruto imaturo do tipo verde arroxeadada e frutos de tamanho grande.

As medidas de dissimilaridade genéticas possibilitaram estimar que os acessos mais diferenciados foram: ACE 002 (2) e ACE 024 (18); ACE 007(5) e ACE 021 (16); ACE 011 (9) e ACE 022 (17), por apresentarem o máximo valor de dissimilaridade, sendo 0,647 %, 0,529 % e 0,538 %, respectivamente.

As menores magnitudes de distância foram entre os acessos: ACE 012 (10) e ACE 014 (11); ACE 012 (10) e ACE 021(16); ACE 017(13) e ACE 027 (21), com dissimilaridade 0,058%, idêntica para os pares de acessos agrupados.

A formação dos grupos não seguiu apenas uma característica específica que pudesse determinar a separação entre os acessos, porém oito descritores foram cruciais para a determinação dos acessos mais distantes. O ACE 002 apresentou CC (ereta), FF (elíptica), FL (fechado), CCFM (rósea clara), CPFM (vermelha arroxeadada), TC (enrugada) e SSF (profunda). Por outro lado, o acesso ACE 024 demonstrou CC (intermediária), FF (ovada), FL (aberta), CCFM (rósea escura), CPFM (roxa), TC (lisa) e SSF (superficial).

Obteve-se o dendrograma com os agrupamentos constantes na Figura 2, por meio do método de agrupamento UPGMA, com base nos dados gerados pela matriz de dissimilaridade entre os 38 acessos.

Para decidir o número de grupos formado no dendrograma, adotou-se um ponto de corte, no local de mais alta mudança de nível (25%). Esse corte resultou na formação de 10 grupos: grupo I (acessos 01, 05); grupo II (acessos 09, 26, 15 e 08); grupo III (acessos 32, 31, 11, 10, 20 e 02); grupo IV (acessos 36, 30, 28, 22, 29, 33, 27, 38 e 16); grupo V (acesso 37, 24 e 07); grupo VI (acessos 25, 23, 17, 29 e 13); grupo VII (acessos 35 e 34); grupo VIII (acessos 14, 06 e 04); grupo IX (acesso 21, 18 e 12) e o grupo X (acesso 03). Houve concordância parcial entre os métodos de agrupamento.

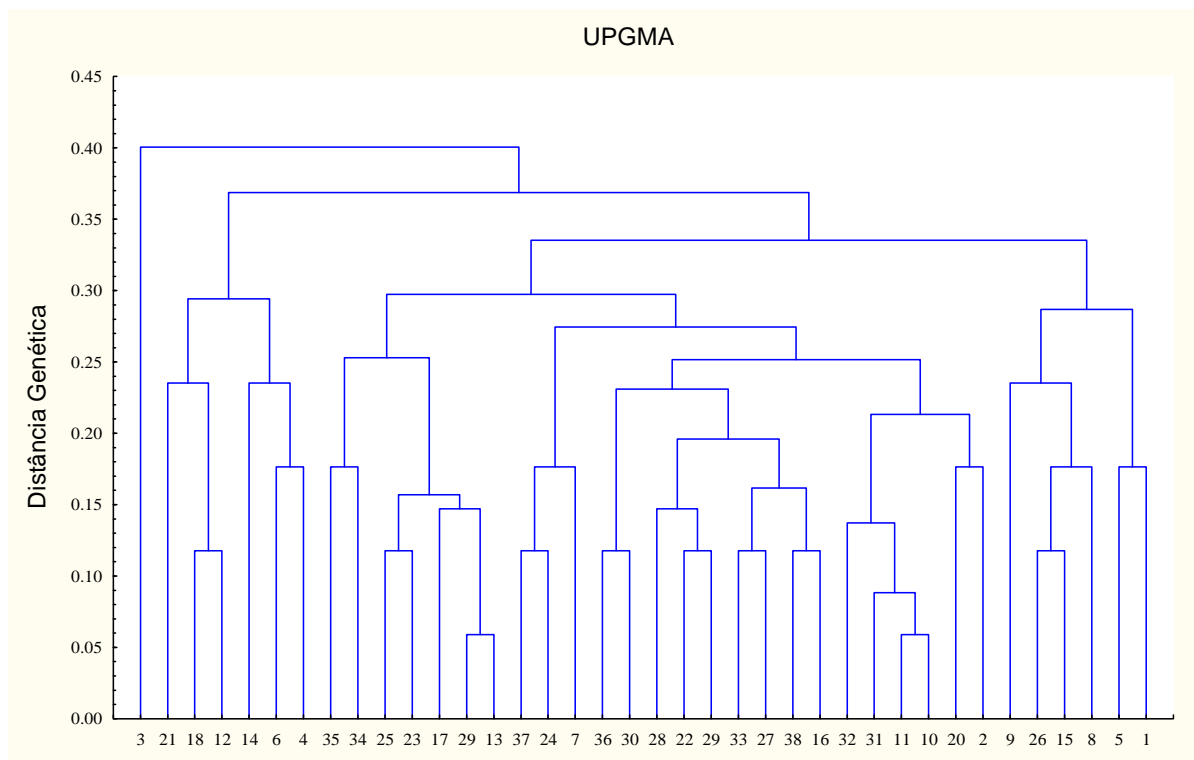


Figura 2 - Dendrograma estabelecido do padrão de dissimilaridade quantificado pelo UPGMA, de 38 acessos de aceroleira.

Os métodos de otimização de Tocher e UPGMA foram concordantes e satisfatórios para a formação de grupos bastante homogêneos para as características avaliadas. De acordo com Vieira et al. (2005), o estabelecimento de grupos com genótipos com homogeneidade dentro e heterogeneidade entre os grupos é o ponto de partida para uma avaliação mais minuciosa dos mesmos, a fim de realizar seu aproveitamento nos programas de melhoramento.

Bento et al. (2007) estudaram descritores qualitativos e multicategóricos na estimativa da variabilidade fenotípica entre acessos de pimentas e concluíram que a análise multicategórica realizada com 28 acessos permitiu a formação de sete grupos pelo método de Tocher. Segundo os autores, a análise de variáveis multicategóricas se mostrou eficiente no agrupamento dos acessos de pimenta estudados, indicando que seu emprego na quantificação da divergência fenotípica e na identificação de grupos heteróticos, pode auxiliar no manejo do banco de germoplasma e na seleção de acessos para programas de melhoramento genético.

Sudré et al. (2006), ao estudarem a divergência fenotípica entre 59 acessos de *Capsicum*, utilizando 15 descritores qualitativos, com o uso de dados multicategóricos, obtiveram a formação de oito grupos pelo método de Tocher. De acordo como os autores, a formação desses agrupamentos entre acessos com

pequena distância genética entre si comprovaria a eficácia desse método para agrupar os acessos com pequena distância genética entre si. Os autores sugerem que a coleta de dados multicategóricos é uma prática mais econômica e demanda menos tempo em relação a dados moleculares.

4.5 Variáveis Físicas, Químicas Físico - Químicas

Na Tabela 7 estão apresentados os valores das médias de diâmetro, comprimento e índice de formato dos frutos.

Tabela 7 - Médias de seis características físicas para os 25 acessos de aceroleiras da Pesagro.

Acesso	Diâmetro (mm)			Comprimento (mm)			Índice de Formato (mm)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ACE 001	20,19	21,50	22,87	18,63	19,25	20,47	1,08	1,12	1,12
ACE 002	17,07	16,76	19,42	14,86	15,00	16,67	1,15	1,12	1,17
ACE 008	25,29	27,14	27,24	23,25	24,93	24,54	1,09	1,09	1,11
ACE 009	22,75	23,33	24,17	21,42	21,47	22,25	1,06	1,09	1,09
ACE 010	20,92	20,08	22,11	18,75	18,67	19,82	1,12	1,08	1,12
ACE 011	23,17	24,44	22,07	19,75	20,08	16,67	1,17	1,22	1,32
ACE 012	23,25	26,08	26,73	21,58	22,17	22,40	1,08	1,18	1,19
ACE 014	21,08	21,43	22,60	19,08	19,71	20,47	1,10	1,09	1,10
ACE 018	23,50	24,85	25,47	20,75	20,87	21,93	1,13	1,19	1,16
ACE 020	21,75	22,07	22,42	19,67	20,50	20,08	1,11	1,08	1,12
ACE 022	24,33	26,92	27,93	21,83	23,67	23,79	1,11	1,14	1,17
ACE 024	21,12	23,03	24,14	18,81	20,50	20,25	1,12	1,12	1,19
ACE 026	18,92	19,67	21,17	16,67	17,17	18,53	1,14	1,15	1,14
ACE 027	22,29	23,04	25,30	19,25	19,50	21,43	1,16	1,18	1,18
ACE 029	21,25	21,32	24,47	20,00	19,86	21,69	1,06	1,07	1,13
ACE 030	18,77	21,57	23,43	16,86	18,89	20,07	1,11	1,14	1,17
ACE 031	21,46	22,35	23,80	17,88	18,75	20,10	1,20	1,19	1,18
ACE 036	21,33	22,64	23,42	20,17	20,43	21,25	1,06	1,11	1,10
ACE 037	21,58	23,50	23,75	18,75	19,83	19,00	1,15	1,18	1,24
ACE 038	20,32	20,50	21,71	17,35	17,64	18,86	1,17	1,16	1,15
ACE 042	21,25	25,50	24,67	17,50	20,70	19,00	1,21	1,23	1,30
ACE 043	24,33	24,89	24,97	20,71	20,43	20,35	1,18	1,22	1,23
ACE 044	24,00	25,88	26,25	21,17	21,67	21,89	1,13	1,19	1,20
ACE 045	20,70	23,79	25,97	17,53	19,82	20,90	1,18	1,20	1,24
ACE 046	23,35	24,82	26,07	20,40	21,68	22,50	1,14	1,14	1,16

Estádios de maturação : 1= de vez; 2= semimaduro; 3= maduro. Os dados representam a média de 20 frutos de cada acesso.

As avaliações físicas mostraram que durante a evolução do processo de maturação houve aumento nos valores de diâmetro e comprimento. Esses resultados estão de acordo com a literatura (França e Narain, 2003; Chitarra, 1994; Nogueira, 1997). O diâmetro dos frutos variou de 17,07 mm a 27,93 mm e o

comprimento oscilou entre 14,86mm e 24,55mm, sendo que os maiores valores foram observados nos acessos ACE 008 e ACE 022.

O índice de formato, que é o reflexo da relação entre diâmetro e comprimento do fruto, variou de 1,06 a 1,24. De acordo com Brunini et al. (2004), frutos de acerola que apresentam valores de índice de formato oscilando entre 0,86 e 1,24 confirma a afirmação de que essa cultura é uma drupa subglobulosa.

As medições da coloração da casca dos frutos (Tabela 8) foram realizadas para os frutos em três estádios de maturação, utilizando um colorímetro (Chroma Meter, modelo CR-300, Minolta). Para tanto, foram realizadas três leituras, em regiões eqüidistantes, que compuseram um valor médio para os seguintes parâmetros de cor: i) luminosidade: parâmetro de Hunter (L); ii) cromaticidade: parâmetro de Hunter (a), que indica a mudança de cor verde para o vermelho e parâmetro de Hunter (b) que indica a evolução da cor azul para o amarelo; ângulo hue (h), que indica a coloração da amostra.

Tabela 8 - Valores dos componentes colorimétricos L*, a* e b* h° de frutos de 25 acessos da Pesagro-RIO, em três estádios de maturação.

Acessos	L*			a*			b*			h°		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ACE 001	57.58	48.87	33.63	13.80	47.14	36.67	35.82	33.80	13.78	69.10	35.50	20.50
ACE 002	53.33	32.38	38.34	20.71	39.84	46.56	34.70	34.24	16.01	60.65	23.10	18.90
ACE 008	48.50	39.30	30.30	16.40	39.33	35.50	31.50	23.13	13.50	62.68	31.90	20.20
ACE 009	64.50	57.40	44.30	16.29	34.35	50.38	45.46	40.16	19.00	70.20	49.90	20.04
ACE 010	60.49	48.37	42.74	20.34	35.57	48.84	44.62	33.91	24.82	65.45	44.00	26.85
ACE 011	61.03	42.04	43.16	9.96	41.49	47.79	44.10	24.93	17.12	77.15	31.00	19.60
ACE 012	53.45	39.64	38.89	14.27	38.60	40.46	28.55	22.44	14.51	63.50	30.20	16.30
ACE 014	63.42	57.02	37.31	9.15	23.44	40.54	41.86	38.13	19.38	77.75	58.60	25.35
ACE 018	53.80	38.65	30.48	26.76	45.17	26.52	33.72	20.57	24.04	51.60	24.45	14.97
ACE 020	79.98	50.02	44.76	(0.34)	36.36	47.47	52.83	29.31	18.35	90.44	39.00	21.00
ACE 022	39.93	37.15	29.44	14.71	35.72	30.89	19.56	24.26	9.94	53.10	33.65	17.70
ACE 024	45.82	42.04	33.85	16.00	38.39	39.86	24.52	26.02	16.40	56.85	34.10	21.54
ACE 026	65.24	47.06	37.07	9.46	45.52	42.94	41.70	32.65	20.58	77.30	33.50	25.50
ACE 027	55.36	51.72	36.14	19.59	37.79	43.40	31.93	32.60	19.24	58.45	40.78	23.75
ACE 029	44.10	32.33	23.36	18.88	39.14	25.13	24.09	13.07	5.46	51.30	20.80	12.20
ACE 030	52.04	40.38	31.47	23.20	40.08	34.96	32.13	22.46	10.37	54.25	28.95	16.45
ACE 031	67.69	61.17	38.94	(2.05)	19.65	42.60	50.66	47.63	22.84	92.10	67.85	28.15
ACE 036	77.80	57.22	41.40	9.30	51.70	44.00	48.60	31.40	13.88	79.20	31.50	17.44
ACE 037	77.00	47.30	37.60	(6.25)	50.26	39.20	39.50	23.76	12.23	85.30	26.30	16.70
ACE 038	78.63	54.29	37.70	(5.30)	50.80	39.31	38.70	29.52	10.25	93.30	30.50	14.50
ACE 042	78.50	45.50	41.22	(6.60)	39.50	43.50	42.50	23.35	15.25	89.10	31.20	19.60
ACE 043	53.97	52.61	39.37	17.13	33.63	43.71	29.41	33.66	27.73	71.50	44.75	27.00
ACE 044	70.99	49.82	33.38	8.28	33.67	37.28	34.43	32.82	12.49	76.40	43.80	18.40
ACE 045	51.22	48.46	33.57	22.22	40.14	39.49	32.20	34.87	15.96	56.30	40.85	21.90
ACE 046	51.30	44.40	31.67	18.30	38.00	32.51	31.50	30.50	8.90	60.70	36.50	15.30

Estádios de maturação: 1= de vez; 2= semimaduro; 3= maduro. Os dados representam a média de 20 frutos de cada acesso

Para todos os acessos, a luminosidade (L^*) dos frutos diminuiu do estágio 'de vez' para o estágio semimaduro e permaneceu decrescente até a maturação completa dos frutos. Esses resultados estão de acordo com observações prévias que indicam que o valor de L^* decai com o aparecimento da cor vermelha, à medida que os frutos amadurecem, representando a perda de brilho dos frutos devido à síntese de carotenóides e diminuição da coloração verde (Lopez Camelo; Gomez, 2004). Os valores de L^* foram maiores entre os acessos ACE 020, ACE 038 e ACE 042 e menores entre os acessos ACE 030, ACE 022 e ACE 029, respectivamente.

Os valores do componente cromático a^* ($+a^*$: grau da cor vermelha do fruto; $-a^*$: grau da cor verde), em 52% dos acessos, aumentaram à medida que os frutos passaram do estágio 'de vez' (alguns com valores negativos) para o semimaduro e maduro (valores positivos) como consequência da síntese de antocianina e degradação da clorofila (Conceição, 1997). Por outro lado, 48% dos acessos apresentaram aumento do estágio 'de vez' para o semimaduro e decréscimo para o maduro.

Os valores do componente cromático b^* ($+b^*$: grau da cor amarela; $-b^*$: grau da cor azul) revelaram tendência de decréscimo até o estágio semimaduro e maduro, correspondendo a uma acentuada síntese de antocianina (cor vermelha) e outros compostos como, por exemplo, β -caroteno (cor laranja), que mascaram os pigmentos de coloração amarela (Lima et al., 2003; Lima et al., 2005). Carvalho et al. (2005) estimaram os teores de licopeno em frutos de genótipos de tomateiro via análise colorimétrica e concluíram que o decréscimo acentuado do componente b^* , provocando a mudança para a coloração vermelha em tomateiro, é decorrente da síntese de licopeno, que mascaram a coloração amarela.

Para os dados referentes ao H^* foi observado que houve um decréscimo do estágio inicial ao final de maturação. Lima et al. (2007), estudando a correlação entre o teor de antocianinas e caracterização cromática de polpas de diferentes genótipos de aceroleira, afirmaram que quanto menor for o ângulo*, mais próximo ao eixo a^* , mais vermelha será a polpa e a casca do fruto. Segundo os autores, isto se dá devido ao aumento do teor de pigmentos antociânicos.

O acesso ACE 029, no estágio maduro, apresentou valor de luminosidade L^* (23,36), valores do parâmetro a^* (25,13), valor do parâmetro b^* (5,42) e de H^* (12,20), caracterizando cor escura, vermelha arroxeada e intensa. Apesar de 60%

os acessos apresentarem cor escura no último estágio de maturação, os acessos ACE 038, ACE 018 e ACE 046 foram considerados os mais escuros por terem apresentado os menores valores de H*, sendo 14,50, 14,97 e 15,30, respectivamente.

A Tabela 9 pode se observar a variação de quatro características químicas (pH, ATT, SS e teor de ácido ascórbico) obtidas nos frutos de acerola em três estádios de maturação.

Tabela 9 - Médias de quatro características químicas para os 25 acessos de aceroleiras da Pesagro.

Acessos	pH			ATT			SST			Vit C		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
ACE 001	3,52	3,40	3,34	0,80	0,72	0,48	7,10	8,10	9,90	3177,54	2723,82	2158,52
ACE 002	3,87	3,89	3,91	0,35	0,35	0,19	8,00	9,50	9,50	1868,44	1533,72	1444,46
ACE 008	3,09	3,15	3,27	1,02	1,17	0,95	7,20	7,80	7,80	2307,28	2277,53	1161,82
ACE 009	3,48	3,50	3,40	0,69	0,69	0,60	8,00	8,00	8,10	2232,90	2024,64	1935,38
ACE 010	3,28	3,34	3,31	0,65	0,58	0,36	6,50	7,00	8,90	1481,66	1384,96	1132,06
ACE 011	3,74	3,78	3,64	0,51	0,48	0,28	8,20	8,80	10,60	2069,27	1727,11	1273,39
ACE 012	3,48	3,49	3,39	0,71	0,65	0,36	7,00	8,50	9,40	2277,53	1608,10	1667,61
ACE 014	3,51	3,50	3,44	0,79	0,79	0,71	7,00	7,00	7,00	2798,20	2500,67	2218,03
ACE 018	3,35	3,37	3,40	0,92	0,88	0,32	6,90	6,90	8,50	3177,54	2389,10	1429,59
ACE 020	3,48	3,52	3,56	0,65	0,49	0,27	7,20	7,30	8,10	2113,89	1920,50	1890,75
ACE 022	3,33	3,32	3,32	0,94	0,93	0,44	7,10	8,20	8,80	2708,94	2619,68	1667,61
ACE 024	3,37	3,35	3,38	0,73	0,64	0,59	7,10	8,00	8,00	2203,15	1503,97	1459,34
ACE 026	3,37	3,29	3,38	1,15	0,89	0,77	6,90	6,90	8,00	2463,48	1801,49	1727,11
ACE 027	3,27	3,38	3,34	0,98	0,71	0,73	8,10	8,60	9,60	2396,54	2024,64	1280,83
ACE 029	3,25	3,25	3,25	0,94	0,96	0,96	7,00	7,40	9,10	2351,91	2039,51	1280,83
ACE 030	3,56	3,30	3,54	0,60	0,66	0,63	7,00	7,20	8,20	1920,50	1593,23	1429,59
ACE 031	3,10	3,08	2,63	1,14	1,18	1,09	6,00	6,90	8,75	2991,59	2738,69	2575,06
ACE 036	3,48	3,41	3,57	0,61	0,59	0,55	7,95	8,10	9,50	1905,63	1637,86	1637,86
ACE 037	3,33	3,29	3,36	0,75	0,69	0,65	8,00	8,00	8,20	2560,18	1875,87	1459,34
ACE 038	3,34	3,31	3,27	0,75	0,75	0,82	8,50	10,20	10,20	2946,96	2247,78	2024,64
ACE 042	3,55	3,51	3,51	0,52	0,35	0,35	7,80	9,20	11,00	2396,54	2374,23	1980,01
ACE 043	3,35	3,38	3,44	0,83	0,85	0,63	7,50	8,95	10,10	2649,44	2128,77	2024,64
ACE 044	3,21	3,29	3,28	1,04	0,88	0,77	7,00	7,20	7,80	3601,51	2322,16	1771,74
ACE 045	3,13	3,10	3,10	0,94	1,02	1,02	7,50	7,60	8,10	2619,68	1935,38	1161,82
ACE 046	3,25	3,25	3,25	1,02	0,97	0,97	7,10	7,50	7,30	3467,63	2619,68	2470,92

Estádios de maturação: 1= de vez; 2= semimaduro; 3= maduro. Os dados representam a média de 20 frutos de cada acesso

O pH dos frutos variou de 3,09 a 3,91, valores esses semelhantes aos encontrados por França e Nairan, (2003); Batista et al. (2000); Musser et al. (2004). Houve aumento de pH entre os acessos do estágio de 'vez' para o estágio semimaduro. Esse resultado é perfeitamente compreensível, pois esse aumento de pH representa a diminuição da acidez dos frutos ao longo da maturação do fruto. Porém, à medida que o fruto passou para o estágio maduro, houve pequena

diminuição no valor do pH em alguns acessos (ACE 001, ACE 009, ACE 010, ACE 011, ACE 012, ACE 014, ACE 027 e ACE 038).

A acidez titulável dos frutos diminuiu ao longo dos estádios de maturação, como já era esperado. Os valores de ATT oscilaram entre 0,19 e 1,18. Musser et al. (2004) encontraram acidez dos frutos de acerola expressa em ácido málico, na safra de inverno/1999 detectando uma variação de 1,31 a 2,04g de ácido málico/100g de polpa. Apesar de a acerola ser considerada uma fruta ácida, por ser rica em ácidos orgânicos, apresentando porcentagens de acidez que oscilam entre 0,65 a 1,68 (Matsuura et al., 2003), foram observados, nessa população (acessos ACE 002, ACE 010, ACE 011 e ACE 012), frutos com acidez comparada ao maracujá que varia de 0,49 a 0,39% de acidez.

Chaves et al. (2004), em estudo de caracterização físico-química do suco da acerola afirma que o °Brix é utilizado na agroindústria para intensificar o controle da qualidade do produto final, controle de processos, ingredientes e outros, tais como: doces, sucos, néctar, polpas, leite condensado, álcool, açúcar, licores e bebidas em geral, sorvetes, entre outros. De acordo com os autores, os sólidos solúveis totais (°Brix) são usados como índice de maturidade para alguns frutos, e indicam a quantidade de substâncias que se encontram dissolvidos no suco, sendo constituído na sua maioria por açúcares.

Para este trabalho, os teores de sólidos solúveis totais aumentaram ao longo do período de maturação dos frutos, variando de 6,00 a 11,00 ° Brix. Os frutos dos acessos ACE 042, ACE 011 e ACE 038 tiveram as maiores porcentagens de SST, com 11,00, 10,60, 10,20, respectivamente, no estágio maduro. As menores porcentagens foram encontradas nos acessos ACE 031 e ACE 018, com 6,00 e 6,50 de °Brix, respectivamente, no estágio 'de vez'. Esses resultados estão de acordo com os observados por Alves, (1996). Segundo o autor, na acerola, podem ser encontrados valores de 5,00, até um máximo de 12,00 °Brix, sendo a média em torno de 7,00 a 8,00 °Brix. Gomes et al. (2000) encontraram valores médios situados entre 5,25 e 8,58 °Brix. Oliveira et al. (2007) encontraram valores entre 6,70 e 9,40 °Brix.

Os teores de vitamina C variaram de 3467 mg (estágio 'de vez') a 1161 mg/100g de polpa (estágio maduro), com os acessos ACE 046 e ACE 008, respectivamente. Quatro acessos apresentaram valores superiores a 3000 mg/100g de polpa no estágio 'de vez', foram eles os acessos: ACE 001, ACE 014,

ACE 046 e ACE 048, com, 3177,54, 3177,54, 3601,51 e 3467,63 mg/100g de polpa, respectivamente. Os menores valores de teor de vitamina C foram observados para os acessos ACE 008, ACE 045, ACE 010 e ACE 011, com 1161,82, 1168,82, 1132,06 e 1273,39 mg/100g de polpa, respectivamente, no estágio maduro.

O teor de vitamina C foi reduziu-se do estágio inicial para o maduro com perda de até 45%, devido à oxidação bioquímica. Vendramini e Trugo (2000), estudando a composição química de acerola, em três estágios de maturação, observaram perda de 50% do teor de vitamina C ao longo do estágio de maturação. Para os autores, esse decréscimo ocorre porque ao longo da maturação do fruto há o surgimento do composto químico 3-hidroxi-2 pirone, que resulta na quebra oxidativa do ácido ascórbico. Adicionalmente, Butt (1980), citado por Nogueira et al., (2002) atribui este decréscimo no conteúdo de vitamina C à atuação da enzima ácido ascórbico oxidase (ascorbato oxidase), que devido a sua atividade ser maior em frutos verdes, explicaria as perdas em decorrência da maturação (Asenjo et al., 1960 citado por Nogueira et al., 2002).

Frutos no estágio 'de vez' apresentaram maiores valores de teor de vitamina C, independente do acesso, ocorrendo uma redução gradativa até a maturação final do fruto. Esses resultados indicam que há uma clara correlação entre o teor de vitamina C e o estágio de maturação concordando com a literatura (Santos et al., 1999; Carvalho, 1992; Sanches et al., 1996; Batista et al., 2000; Silva et al., 2007).

Nogueira et al. (2002) estudaram o efeito do estágio de maturação dos frutos nas características físico-químicas de acerola e verificaram que dois dos acessos estudados produziram frutos com teores de vitamina C adequados, tanto para o mercado interno como para o externo. Os frutos verdes apresentaram teores de vitamina C significativamente maiores que os maduros e semimaduros, podendo ser utilizados pela indústria farmacêutica.

Batista et al. (2000), em estudo dos parâmetros físicos e químicos da acerola (*malpighia puniceifolia*, L.), em diferentes fases de maturação, observaram que o teor de vitamina C presente no material classificado como verde superou em mais de três vezes o teor determinado nas amostras maduras. O teor de vitamina C presente no material meio-maduro revelou-se mais de 1,8 vezes superior ao teor do material maduro e cerca de 1,7 vezes inferior ao teor

determinado no material verde, demonstrando clara correlação do teor de vitamina C com o estágio de maturação dos frutos de acerola.

4.6. Componentes Principais

As estimativas das variâncias e os autovetores de cada componente, obtidos a partir da análise dos componentes principais em 25 acessos de aceroleira, constam nas Tabela 10.

Tabela 10 - Estimativas das variâncias e os autovetores de cada componente, obtidos a partir da análise dos componentes principais em 25 acessos de aceroleira da Pesagro-Rio.

Componente principal	Raiz	Raiz (%)	% Acumulada
CP1	9,78	32,62	32,62
CP2	6,75	22,52	55,15
CP3	3,47	11,58	66,74
CP4	2,94	9,81	76,55
CP5	1,66	5,54	82,10
CP6	1,39	4,64	86,74
CP7	0,92	3,07	89,82
CP8	0,77	2,59	92,42
CP9	0,48	1,60	94,02
CP10	0,36	1,20	95,22
CP11	0,28	0,93	96,16
CP12	0,24	0,80	96,97
CP13	0,20	0,69	97,66
CP14	0,18	0,622	98,28
CP15	0,15	0,51	98,80
CP16	0,12	0,41	99,22
CP17	0,08	0,27	99,50
CP18	0,074	0,24	99,74
CP19	0,028	0,096	99,84
CP20	0,018	0,060	99,90
CP21	0,012	0,041	99,94
CP22	0,009	0,030	99,97
CP23	0,003	0,012	99,99
CP24	0,0024	0,0080	99,99
CP25	0,000015	0,00005	99,99
CP26	0,0000045	0,000015	99,99
CP27	0,0000006	0,0000021	99,99
CP28	0,00	0,0000001	99,99
CP29	0,0000013	0,0000042	99,99
CP30	0,0000055	0,0000184	100,0

Em estudos de divergência genética entre um grupo de genótipos é desejável que a variância acumulada nos dois primeiros componentes principais

exceda a 80% (Cruz & Carneiro, 2003). Contudo, pelos resultados obtidos, a variância acumulada entre os componentes não demonstrou distribuição concentrada nos dois primeiros componentes, os quais foram responsáveis pela explicação de apenas 55,16 da variação.

Constata-se que, somente a partir dos quatro primeiros componentes, foi possível explicar 76,64% da variabilidade total entre os acessos. Verifica-se, ainda, que devido a variância se encontrar diluída nos quatro primeiros componentes, nenhum deles, individualmente, foi capaz de resumir um volume de informação satisfatório.

Esses resultados estão dentro dos relatados na literatura, como os obtidos por Choer e Silva (2000) que, através da análise de fatores, constataram que foram necessárias as informações dos quatro fatores para explicar 76,60% da variância entre acessos de abóbora, pois os dois primeiros concentraram apenas 53% da variação. Resultado semelhante foi relatado por Martinello et al. (2003) e Modesta et al. (2005), que obtiveram apenas 57% e 58,5% de variação nos dois primeiros componentes, em quiabeiro e maracujá, respectivamente.

A análise dos componentes principais permitiu reduzir os 10 descritores, em três estádios de maturação, para apenas dois, sendo que o primeiro (Teor de ácido ascórbico) foi discrepante nos três estágios e o segundo apenas em um estágio. Os CP1, CP2 e CP3 explicaram 32,63, 22,52 e 11,59% da variância total dos acessos, respectivamente. O restante dos componentes foi responsável por apenas 13,3% da variância total dos acessos.

Devido às quatro primeiras características explicarem o máximo de variação, foi necessário obter um gráfico tridimensional (Figura 5), onde os 25 acessos foram separados em quatro grupos distintos. O grupo I agregou os acessos 1, 3, 9, 15, 23, 24 e 25; o segundo grupo foi formado pelos acessos 4, 5, 7, 8, 11, 12, 13, 14, 16, 19 e 22; o grupo III agregou os acessos 2, 6, 10, 18, 20 e 21; o quarto grupo ficou isolado composto apenas pelo acesso 17.

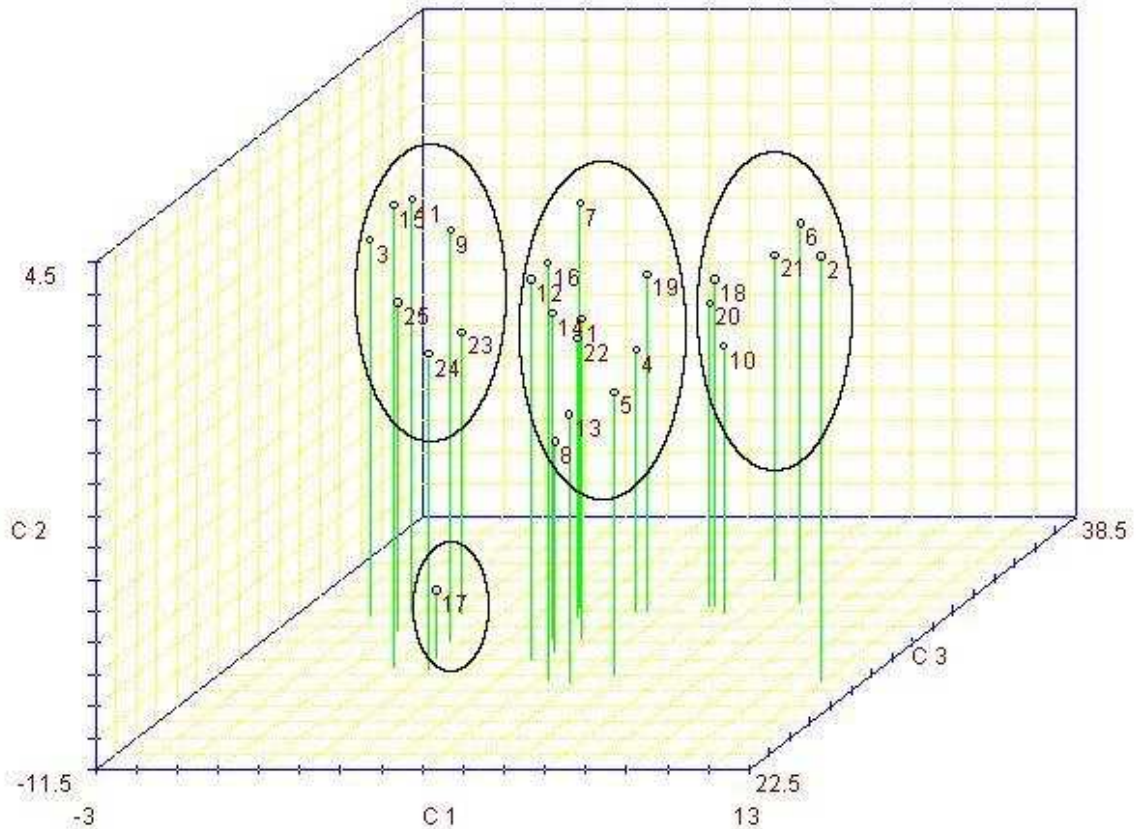


Figura 3 - Gráfico tridimensional relativo aos quatro primeiros autovalores que expressaram o máximo de variação total.

1 = ACE 001; 2 = ACE 002; 3 = ACE 008; 4 = ACE 009; 5 = ACE 010; 6 = ACE 011; 7 = ACE 012; 8 = ACE 014; 9 = ACE 018; 10 = ACE 020; 11 = ACE 022; 12 = ACE 024; 13 = ACE 026; 14 = ACE 027; 15 = ACE 029; 16 = ACE 030; 17 = ACE 031; 18 = ACE 036; 19 = ACE 037; 20 = ACE 038; 21 = ACE 042; 22 = ACE 043; 23 = ACE 044; 24 = ACE 045; 25 = ACE 046.

A maior distância genética foi observada entre os acessos 2 (ACE 002) e 17 (ACE 031), apresentando 2,84 de dissimilaridade. Por outro lado, os acessos menos distantes geneticamente foram observados para os acessos 12 (ACE 024) e 16 (ACE 030), com 0,65 de dissimilaridade.

O grupo I agregou os acessos com os maiores teores de vitamina C, dentre eles, os acessos: ACE 001, ACE 018, ACE 044 e ACE 046, que superaram todos os outros acessos da população, com valores superiores a 3000 mg por 100 g de polpa no estágio de maturação do tipo 'de vez'. Nesse grupo ainda foram encaixados acessos que apresentaram valor alto de sólidos solúveis, como pode ser visto nos acessos ACE 001, com 9,90 °brix, e ACE 029, com 9,10 °Brix, no estágio maduro.

O segundo grupo apresentou o maior número de acessos (44%) entre os 25 estudados. Porém, o grupo IV foi representado por apenas um indivíduo, o acesso ACE 031 (17).

Utilizando o método hierárquico UPGMA (Figura 06). Verificou-se que houve uma concordância entre o número de grupos formados e os acessos assim agrupados nos mesmos. Utilizando um corte de 1,3% como ponto de delimitação foi possível observar que os indivíduos ACE 002 e ACE 031 ficaram isolados dos demais. Houve a formação de um grupo com seis indivíduos, sendo eles os acessos: ACE 029, ACE 018, ACE 046, ACE 044, ACE 022 e o ACE 008. O restante dos acessos foram agregados no último grupo.

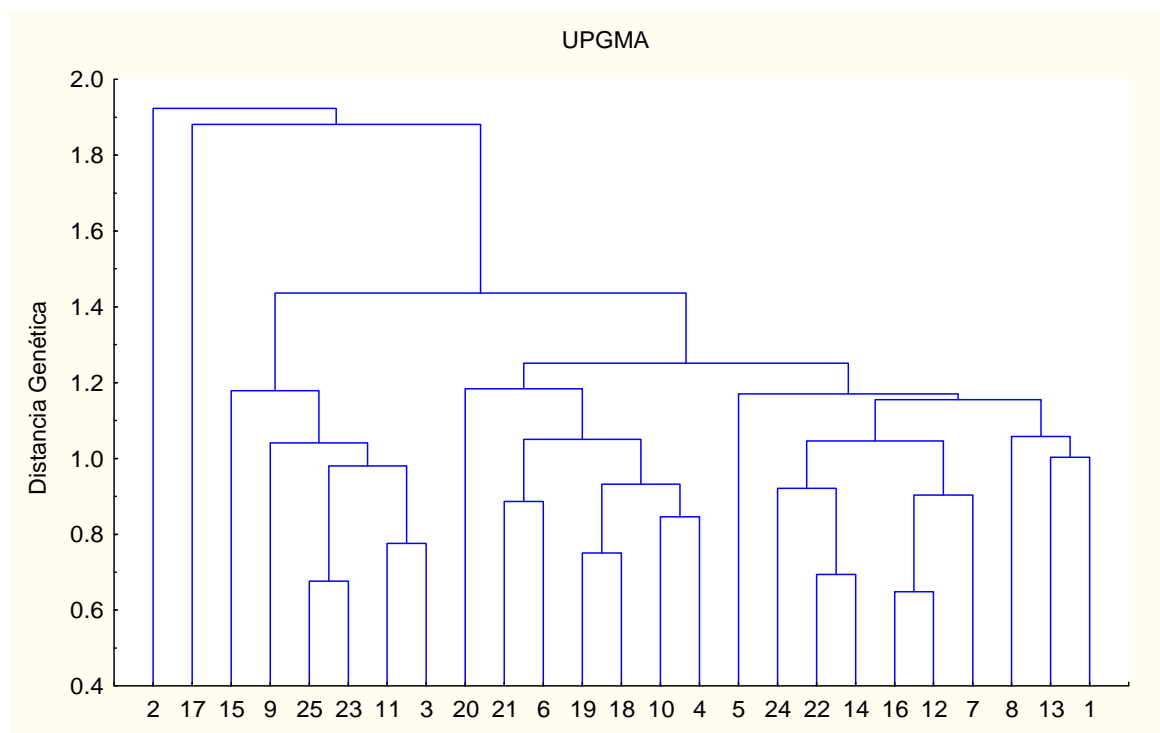


Figura 4 - Dendrograma representativo da divergência genética entre os 25 acessos de aceroleira, obtido pelo método UPGMA, utilizando a distância euclidiana média como medida de dissimilaridade.

4.6.1 Importância relativa dos caracteres para diversidade genética

Foi avaliada a importância relativa dos caracteres pelo método de Singh (1981), utilizando 10 características físico-químicas em três estádios de maturação (Tabela 11). Determinou-se que apenas a Vitamina C, para os três estádios, contribuíram com 98,84, enquanto nove características contribuíram com menos de 1%, portanto de pouca importância para o estudo de diversidade

genética. A maior contribuição dessa característica foi verificada no estágio semi maduro (44,59%), seguidas pelo estágio maduro (27,57%) e estágio supra maduro (27,68%).

Tabela 11 - Contribuição relativa de 10 caracteres físico-químicos em três estádios de maturação para divergência em aceroleira, pelo método de Singh (1981).

Variável	S.j	Valor em %
D1	2219,55	0,0006
D2	3638,21	0,0010
D3	2499,31	0,0007
C1	2205,00	0,0006
C2	2402,26	0,0007
C3	2151,12	0,0006
L1	83208,95	0,0231
L2	36316,77	0,0101
L3	16621,44	0,0046
A1	55019,04	0,0153
A2	32794,92	0,0091
A3	25558,35	0,0071
B1	43628,63	0,0121
B2	31983,49	0,0089
B3	17336,44	0,0048
H1	108648,76	0,0301
H2	70206,30	0,0195
H3	10853,72	0,0030
pH1	20,61	-
pH2	19,58	-
pH3	29,66	-
ATT1	25,38	-
ATT2	29,46	-
ATT3	40,34	-
SS1	208,49	0,0001
SS2	472,49	0,0001
SS3	651,61	0,0002
Vit 1	160774720,22	44,59
Vit 2	99412246,92	27,58
Vit 3	99795665,05	27,68

1 = estágio 'de vez'; 2 = estágio semimaduro; 3 = estágio maduro.

D= diâmetro do fruto; C= comprimento do fruto; L, A, B H= parâmetros de Hunter; pH= potencial hidrogeniônico dos frutos; ATT= acidez total titulável; SST= sólidos solúveis totais; Vit c= teor de Vitamina C

4.7 Ensaio de RAPD

Utilizaram-se inicialmente amostras de DNA de quatro acessos divergentes com base em algumas características morfoagronômicas (altura da planta, diâmetro do tronco da planta, cor da casca do fruto imaturo e cor da casca do fruto maduro). Dos 72 iniciadores testados, 25 forneceram produtos nítidos para amplificação, além da boa repetibilidade. Esses foram utilizados em toda a

população, gerando um total de 92 marcas polimórficas e 16 monomórficas (Tabela 12), onde foram amplificados com uma média de 4,3 bandas polimórficas por iniciador. O número de marcas polimórficas variou de um a oito por iniciador, totalizando 85,18% de polimorfismo. Os fragmentos polimórficos utilizados no estudo podem ser considerados suficientes para avaliação da diversidade genética na espécie.

Tabela 12 - Relação dos 25 iniciadores utilizados da série OPERON Technologies com as respectivas seqüências de bases e número de marcas polimórficas e monomórficas.

Iniciador	Seqüência de iniciadores	Nº de marcas polimórficas	Nº de marcas monomórficas	Nº total de marcas por iniciador
1-OPA 13	5'- CAGCACCCAC-3'	4	0	4
2-OPAB 01	5'- CCGTCGGTAG-3'	3	0	3
3-OPAB 09	5'- GGGCGACTAC-3'	3	1	4
4-OPAB 11	5'- GTGCGCAATG-3'	8	2	10
5-OPAB 13	5'- CCTACCGTGG-3'	4	0	4
6-OPAE 03	5'- CATAGAGCGG-3'	3	2	5
7-OPAE 14	5'- GAGAGGCTCC-3'	3	0	3
8-OPAE 16	5'- TCCGTGCTGA-3'	3	0	3
9-OPAE 17	5'- GGCAGGTTCA-3'	4	2	6
10-OPAF 13	5'- CCGAGGTGAC-3'	4	0	4
11-OPAF 20	5'- CTCCGCACAG -3'	3	1	4
12-OPAR 03	5'- GTGAGGCGCA-3'	3	0	3
13-OPAX 09	5'- GGAAGTCCTG-3'	6	0	6
14-OPAX 10	5'- CCAGGCTGAC-3'	2	0	2
15-OPAX 11	5'- TGATTGCGGG-3'	3	1	4
16-OPAX 14	5'- CACGGGCTTG-3'	6	0	6
17-OPAX 15	5'- CAGCAATCCC-3'	1	3	4
18-OPAX 16	5'- GTCTGTGCGG-3'	6	0	6
19-OPI 02	5'- GGAGGAGAGG-3'	3	1	4
20-OPI 03	5'- CAGAAGCCCA-3'	1	1	2
21-OPI 05	5'- TGTTCCAGGG-3'	4	0	4
22-OPI 06	5'- AAGGCGGCAG-3'	3	1	4
23-OPI 07	5'- CAGCGACAAG-3'	3	0	3
21-OPI 10	5'- ACAACGCGAG-3'	2	1	0
25-OPI 11	5'- ACATGCCGTG-3'	4	0	4
TOTAL		92	16	108

Salla et al. (2002), ao avaliarem o uso de marcadores moleculares na análise da variabilidade genética em aceroleiras, encontraram resultados semelhantes de polimorfismo. Os autores obtiveram cerca de 90,8% de polimorfismo com quatro bandas polimórficas por iniciador, e afirmaram que, apesar de a cultura apresentar base genética estreita, o polimorfismo gerado pelos marcadores é suficiente para caracterizar coleções de aceroleiras encontradas no Brasil.

Emygdio et al. (2003), estudando de divergência genética em cultivares de feijoeiro comum, constataram a presença de 85,6% de polimorfismo.

Estudando a diversidade genética em genótipos de bananeira, Souza (2006) verificou que o número de marcas totais variou entre um e quatro marcas por iniciador, com 79,79% das marcas apresentando polimorfismo.

Guimarães et al. (2007), em estudo de caracterização morfológica e molecular de 22 acessos de feijão-fava, obtiveram 76 bandas, sendo 60 polimórficas e 16 monomórficas, correspondendo, assim, a 78,94% de polimorfismo.

Em estudo de caracterização e identificação de cultivares de pereiras, Sawazaki et al. (2002) utilizaram 26 iniciadores em 36 acessos de pereira encontrando 70,2% de polimorfismo.

Martinello et al. (2003), trabalhando com acessos de quiabeiro, utilizaram 31 iniciadores em 43 genótipos, que proporcionaram um elevado polimorfismo entre os genótipos avaliados, amplificando um total de 103 fragmentos polimórficos, na proporção de 3,3 marcas por iniciador.

A natureza do polimorfismo de RAPD depende dos tipos de iniciadores utilizados e seus produtos de amplificação. Quanto maior for o produto da amplificação, maiores serão as chances de se detectar polimorfismo e, conseqüentemente, a obtenção dos resultados mais confiáveis (Araújo et al., 2003). Na literatura, os trabalhos relacionados à caracterização de aceroleiras, utilizando marcadores genéticos, são escassos. Dessa forma, é importante citar que dentre os iniciadores utilizados, alguns apresentaram potencial para uso em estudos de diversidade para a cultura da aceroleira, utilizando o marcador do tipo RAPD, pois apresentaram entre seis e oito marcas polimórficas (Tabela 2). Dentre estes podem ser citados os iniciadores OPAB-11, OPAX-09, OPAX-14 e OPAX-16.

Viana et al. (2003), estudando a análise de marcadores RAPD no maracujazeiro, mostraram que entre os 100 iniciadores testados, 14 apresentaram maior potencial para utilização, sendo eles: OPAC-15, OPAC-20, OPAD-01, OPAD-11, OPAD-14, OPAD-16, OPAD-19, OPAE-01, OPAE-08, OPAE-09, OPAE-10, OPAE-14, OPAE-18 e OPAE-19, os quais apresentaram pelo menos cinco ou mais bandas polimórficas.

4.7.1 Diversidade Genética

Verificou-se a ocorrência de diversidade entre os 48 acessos estudados através da técnica de marcadores do tipo RAPD, indicando que esta técnica mostrou-se eficaz para identificação de diversidade na população de aceroleiras. O produto de amplificação foi utilizado para o cálculo de similaridade genética entre os acessos. Na Figura 5 é ilustrado o padrão eletroforético obtido com o iniciador OPAB-11.

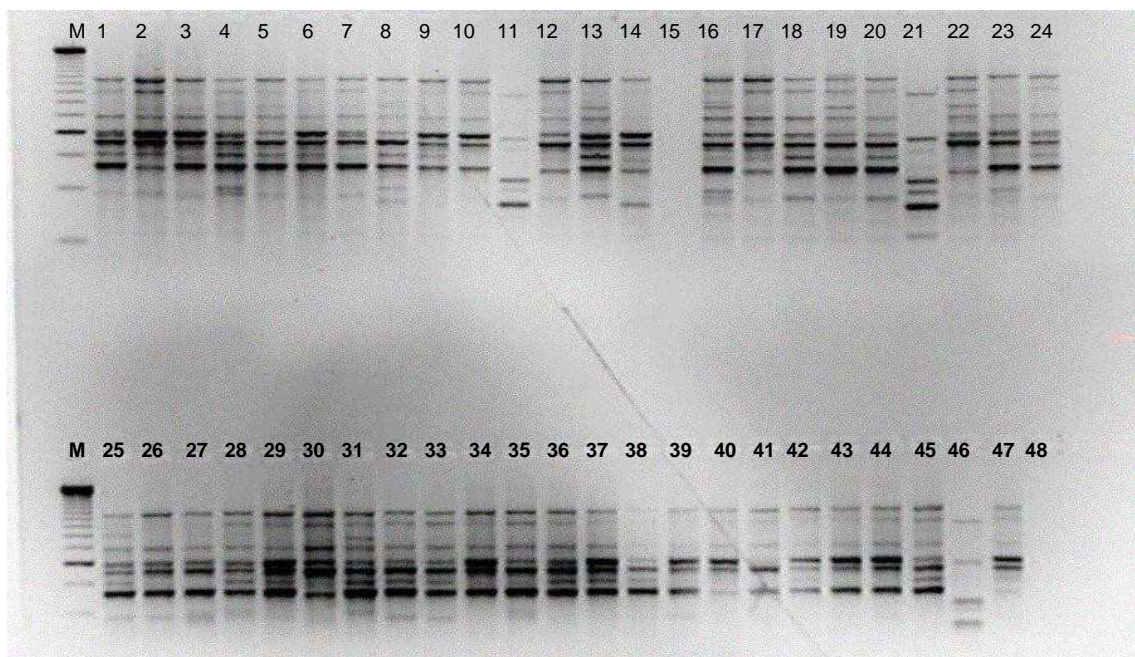


Figura 5 - Bandas polimórficas de RAPD dos 48 acessos da população de aceroleiras da Pesagro-RIO

O complemento do coeficiente de Jaccard forneceu a estimativa da dissimilaridade genética entre os acessos avaliados. As dissimilaridades entre os acessos variou de 0,180 a 0,588, apresentando distância genética média de 0,361. As dissimilaridades mínimas foram registradas entre os acessos ACE 041

e ACE 043. Por outro lado, entre os acessos ACE 023 e ACE 033 e entre ACE 001 e ACE 017, registrou-se as maiores dissimilaridades, apresentando uma distância genética de 0,588 e 0,406, respectivamente.

Neste trabalho, não havia conhecimento prévio da variabilidade genética dos progenitores desta população, contudo, o nível de diversidade obtido neste estudo sugere que a mesma possui alta variabilidade genética. É provável que o alto grau de polimorfismo encontrado nos 48 genótipos esteja relacionado ao fato de esta espécie apresentar características predominantes de planta de fecundação cruzada. Lopes et al. (2002), estudando o polimorfismo isoenzimático de aceroleira, sugerem que o alto grau de polimorfismo observado nessa cultura seja um indicativo de considerável taxa de cruzamento, confirmando a predominância de alogamia da aceroleira. Adicionalmente, Salla et al. (2002) avaliando a variabilidade genética entre 24 acessos de aceroleiras, por meio de marcadores RAPD, relataram que a variabilidade genética obtida pelos marcadores pode estar relacionada à intensa utilização de sementes na produção de mudas.

Estudos de diversidade sugerem que há uma tendência em germoplasma de plantas arbóreas e arbustivas, alógamas ou autógamias, com alta taxa de alogamia, apresentarem alto polimorfismo (Oliveira et al., 2007), especialmente naquelas pouco melhoradas. Dessa forma, há a possibilidade de se obter ganhos genéticos significativos com o emprego de alguns desses acessos em futuros programas de melhoramento.

Com base nos resultados aqui apresentados, este estudo proporcionou, além da caracterização molecular dos acessos, possibilidade de futura recomendação de genótipos a serem utilizados pelos produtores de aceroleira, com base na divergência genética associada a estudos de características morfológicas como, por exemplo, teor de ácido ascórbico.

4.7.2 Análise de agrupamento pelos métodos de Tocher e de UPGMA

O método de otimização de Tocher separou os 48 acessos em 13 grupos distintos com 35 indivíduos (72,92%) no primeiro grupo (Tabela 13). Dessa forma, o grupo I foi constituído por: ACE 041, ACE 043, ACE 005, ACE 040, ACE 003, ACE 044, ACE 037, ACE 045, ACE 006, ACE 010, ACE 002, ACE 032, ACE 015,

ACE 012, ACE 036, ACE 038, ACE 035, ACE 013, ACE 004, ACE 047, ACE 042, ACE 046, ACE 034, ACE 008, ACE 011, ACE 022, ACE 027, ACE 019, ACE 014, ACE 016, ACE 021, ACE 039, ACE 007, ACE 031 e ACE 48. Geralmente, os grupos formados por grande número de acessos agrupam os pares que apresentam menores distâncias, uma vez que o tamanho do grupo é delimitado por uma distância média entre os pares de indivíduos.

Com relação aos acessos que compõem o grupo I, foram observadas similaridades entre indivíduos em relação as características químicas e morfológicas a partir dos descritores preliminares indicadas para aceroleira.

Salla et al. (2002), comparando os dados obtidos pelos marcadores RAPD com características químicas e morfológicas, observaram que o grupo I associou oito acessos. Entre eles, estavam os acessos UEL-26 e Iapar-1, os quais apresentaram como principal característica, concentrações similares de vitamina C. Os autores utilizaram para as comparações, dados obtidos pelos trabalhos de Carpentiere-Pípulo, (2000).

O grupo II foi composto pelos acessos ACE 009 e ACE 033. A distância genética observada entre os acessos foi de 0,303.

Os demais grupos (III, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII e XIII) apresentaram apenas um acesso cada um, ACE 025, ACE 026, ACE 020, ACE 018, ACE 029, ACE 001, ACE 028, ACE 017, ACE 030, ACE 024 e ACE 023, respectivamente.

Tabela 13 - Agrupamento dos 48 acessos da população de aceroleiras da Pesagro-RIO, pelo método de Tocher, utilizando o Complemento Aritmético do Índice de Jaccard em marcadores RAPD.

Grupos	Acessos
I	ACE 041, ACE 043, ACE 005, ACE 040, ACE 003, ACE 044, ACE 037, ACE 045, ACE 006, ACE 010, ACE 002, ACE 032, ACE 015, ACE 012, ACE 036, ACE 038, ACE 035, ACE 013, ACE 004, ACE 047, ACE 042, ACE 046, ACE 034, ACE 008, ACE 011, ACE 022, ACE 027, ACE 019, ACE 014, ACE 016, ACE 021, ACE 039, ACE 007, ACE 031 e ACE 48
II	ACE 009 e ACE 033
III	ACE 025
IV	ACE 026
V	ACE 020
VI	ACE 018

Continuação...

VII	ACE 029
VIII	ACE 001
IX	ACE 028
X	ACE 017
XI	ACE 030
XII	ACE 024
XIII	ACE 023

Devido ao fato de o primeiro grupo ter apresentado 35 acessos, o que representa 72,92% dos acessos dentre toda a população, foi realizada uma nova separação, pelo método de Tocher, utilizando apenas os indivíduos do grupo I. O subagrupamento está descrito na Tabela 14, onde observa-se a formação de 14 grupos.

Os resultados do agrupamento mostraram que o subgrupo I agregou 17 acessos, o equivalente a 48,57% dos acessos entre os 35 que pertenciam ao grupo I e foram reagrupados. Os acessos ACE 004, ACE 005, ACE 010, ACE 002, ACE 011, ACE 044, ACE 040, ACE 013, ACE 043, ACE 003, ACE 045, ACE 007, ACE 039, ACE 038, ACE 041, ACE 036 e ACE 008 permaneceram agrupados no mesmo grupo, tanto no primeiro como no segundo agrupamento.

Dentre os novos grupos obtidos (Tabela 14), cinco deles agregaram dois acessos cada. São eles: grupo II, com os acessos ACE 032 e ACE 047; grupo III, com os acessos ACE 014 e ACE 019; grupo IV, com os acessos ACE 042 e ACE 046; grupo V, com os acessos ACE 031 e ACE 034 e grupo VI, com os acessos ACE 027 e ACE 035.

Observou-se, também, a formação de novos grupos com acessos isolados, como foi o caso dos grupos VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII e XIV, formado pelos acessos ACE 048, ACE 022, ACE 012, ACE 006, ACE 016, ACE 021, ACE 015 e ACE 037, respectivamente.

Os acessos mais divergentes foram observados em grupos isolados. De acordo com Vieira et al. (2005), grupos formados por apenas um indivíduo apontam na direção de que tais indivíduos sejam mais divergentes em relação aos demais.

Costa (2004), estudando a diversidade genética entre acessos de *Capsicum SSP.*, com base em marcadores RAPD, utilizou o método de otimização de Tocher obtendo a formação de quatro grandes grupos, sendo o primeiro e o segundo dividido por duas vezes em grupos menores. Para este trabalho, o grupo I foi subdividido em dois grupos menores, agregando vários acessos similares (*C. annuum*, *C. chinese* e *C. frutescens*) e o grupo II, que por sua vez, também foi subdividido por duas vezes, agregando acessos de maior similaridade.

Tabela 14 - Subagrupamento dos acessos componentes do grupo I (Tabela 13), pelo método de Tocher, utilizando o Complemento Aritmético do Índice de Jaccard em marcadores RAPD.

Grupos	Acessos
I	ACE 004, ACE 005, ACE 010, ACE 002, ACE 011, ACE 044, ACE 040. ACE 013, ACE 043, ACE 003, ACE 045, ACE 007, ACE 039, ACE 038. ACE 041, ACE 036, ACE 008.
II	ACE 032 e ACE 047
III	ACE 014 e ACE 019
IV	ACE 042 e ACE 046
V	ACE 031 e ACE 034
VI	ACE 027 e ACE 035
VII	ACE 048
VIII	ACE 022
IX	ACE 012
X	ACE 006
XI	ACE 016
XII	ACE 021
XIII	ACE 015
XIV	ACE 037

Com base nos dados gerados pela matriz de dissimilaridade, obteve-se o dendrograma com os agrupamentos constantes na Figura 6, por meio do método de agrupamento UPGMA, onde, no eixo Y, estão representadas as porcentagens das distâncias entre os acessos e, no eixo X, estão representados os 48 acessos.

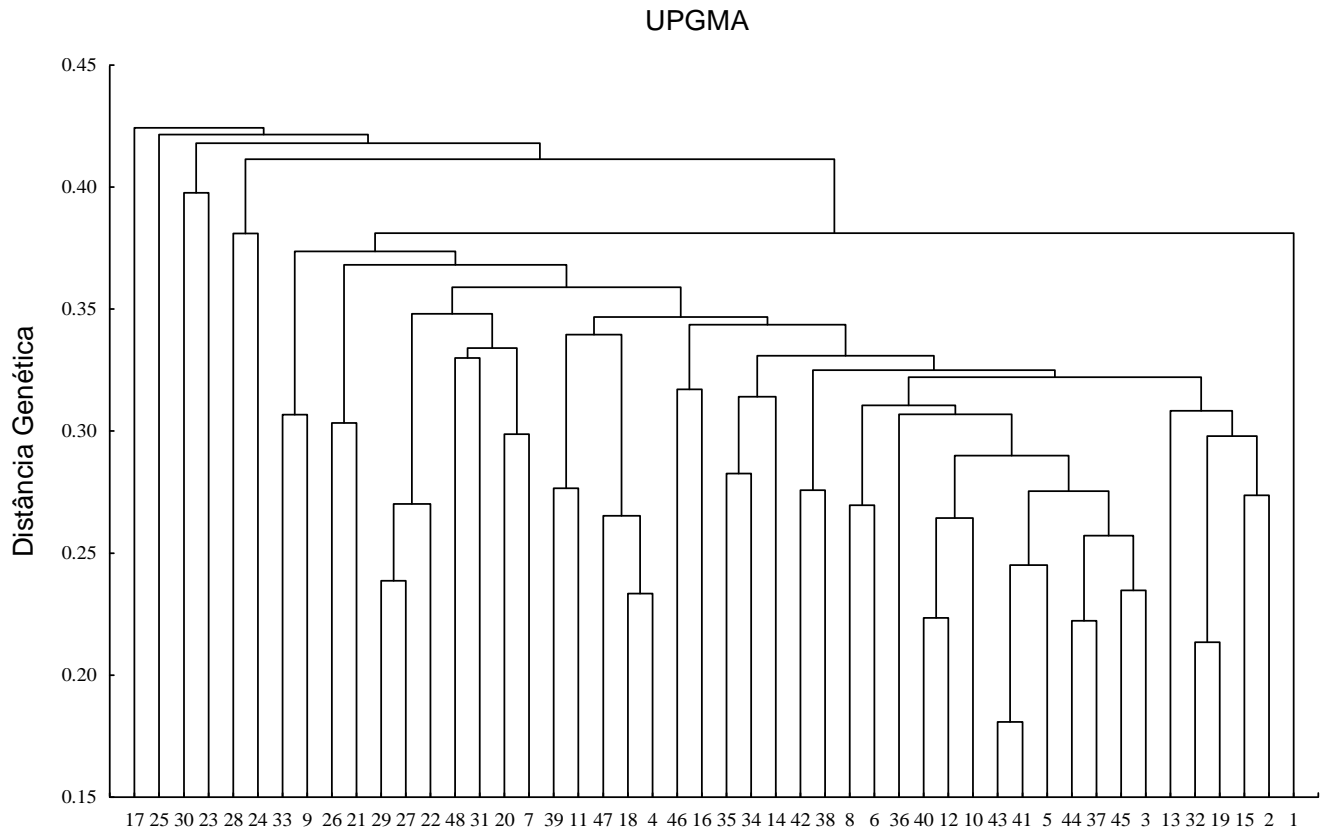


Figura 6 - Dendrograma representativo da divergência genética entre os 48 acessos de aceroleira, obtido pelo método UPGMA, utilizando o complemento aritmético do índice de Jaccard, com base em marcadores RAPD.

Foram delimitados 14 grupos, considerando dissimilaridade relativa a 34% do ponto de delimitação no dendrograma. O grupo I agregou o acesso ACE 001. O grupo II é representado por 23 indivíduos, sendo eles os acessos: ACE 035, ACE 034, ACE 014, ACE 042, ACE 038, ACE 008, ACE 006, ACE 036, ACE 012, ACE 040, ACE 010, ACE 0043, ACE 041, ACE 005, ACE 044, ACE 037, ACE 045, ACE 003, ACE 013, ACE 032, ACE 019, ACE 015, e ACE 002. O grupo III tem como constituintes os acessos: ACE 016 e ACE 046. O grupo IV é formado pelos acessos: ACE 004, ACE 018, ACE 047, ACE 011 e ACE 039. grupo V – acessos: ACE 007, ACE 020, ACE 048 e ACE 031; grupo VI - acessos ACE 027,

ACE 029 e ACE 022; grupo VII - acesso ACE 021 e ACE 026 ; grupo VIII- acessos ACE 009 e ACE 033; grupo IX- acesso ACE 024; grupo X- acesso ACE 028; grupo XI- acesso ACE 023; grupo XII- ACE 030; grupo XIII- ACE 025 e grupo XIV- ACE 017.

Os resultados mostraram que, para os dois métodos de agrupamentos utilizados, foi possível observar uma concordância parcial entre os resultados, uma vez que alguns acessos não permaneceram no mesmo grupo. Por outro lado, alguns grupos foram formados por genótipos isolados, sendo esses os mesmos em ambos os métodos de agrupamento.

4.8. Concordância entre marcadores RAPD e características morfoagronômicas.

Foram feitas avaliações com base na relação de descritores mínimos para aceroleira (Oliveira et al., 1998), sendo escolhidos, para efeito de comparação entre os acessos agrupados as seguintes características: conformação da copa, ramificação da copa, forma geral dos bordos da corola, coloração da casca do fruto imaturo, coloração da casca do fruto maduro e tamanho do fruto maduro, importantes na caracterização morfológica de acerola e o principal parâmetro referencial para essa cultura, isto é, teor de vitamina C (Tabela 15). Devido à falta de frutificação inicial dos materiais, tabulou-se apenas 38 acessos, que apresentaram as características estudadas. Por outro lado, apenas 25 acessos apresentaram frutos suficientes para a realização da análise do teor de ácido ascórbico.

Tabela 15 - Descritores morfoagronômicos e teor de ácido ascórbico para os acessos de aceroleiras da população da Pesagro-Rio.

Acessos	CC	RC	FGBF	CCFI	CCFM	TMF	Vit C (mg/100g)
ACE 001	Ereta	muito	ondulada	verde	roxa	médio	2158
ACE 002	Ereta	pouco	ondulada	verde	arroxeadada	pequeno	1444
ACE 003	-	-	-	-	-	-	-
ACE 004	Globular	pouco		arroxeadada	arroxeadada	médio	-
ACE 005	Globular	muito	levemente	verde	arroxeadada	grande	-
ACE 006	-	-	-	-	-	-	-
ACE 007	Ereta	muito		verde	arroxeadada	médio	-
ACE 008	Globular	muito		verde	arroxeadada	grande	1116
ACE 009	Intermediária	muito	ondulada	verde	vermelha	grande	1935
ACE 010	Ereta	muito	reta	verde	vermelha	médio	1132
ACE 011	Ereta	muito	levemente	verde	vermelha	médio	1273
ACE 012	Ereta	muito	ondulada	verde	vermelha	médio	1667
ACE 013	-	-	-	-	-	-	-
ACE 014	Ereta	muito	ondulada	verde	vermelha	médio	2218
ACE 015	-	-	-	-	-	-	-
ACE 016	Intermediária	muito	ondulada	verde	roxa	grande	-
ACE 017	Globular	muito	ondulada	verde	arroxeadada	grande	-
ACE 018	Intermediária	muito	levemente	verde	arroxeadada	grande	1429
ACE 019	-	-	-	-	-	-	-
ACE 020	Ereta	muito	ondulada	verde	arroxeadada	médio	1890
ACE 021	Globular	muito	ondulada	arroxeadada	vermelha	médio	-
ACE 022	Globular	muito	ondulada	arroxeadada	arroxeadada	grande	1667
ACE 023	-	-	-	-	-	-	-
ACE 024	Intermediária	muito	levemente	verde	roxa	grande	1459
ACE 025	Globular	muito	ondulada	verde	vermelha	médio	-
ACE 026	Ereta	muito	ondulada	verde	vermelha	médio	1727
ACE 027	Intermediária	muito	ondulada	arroxeadada	arroxeadada	grande	1280
ACE 028	Globular	muito	ondulada	verde	vermelha	grande	-
ACE 029	Globular	muito	ondulada	verde	vermelha	médio	1280
ACE 030	Intermediária	muito	ondulada	verde	arroxeadada	grande	1429
ACE 031	Globular	muito	ondulada	verde	vermelha	grande	2575
ACE 032	-	-	-	-	-	-	-
ACE 033	-	-	-	-	-	-	-
ACE 034	Ereta	muito	ondulada	verde	vermelha	médio	-
ACE 035	Ereta	muito	ondulada	verde	vermelha	médio	-
ACE 036	Ereta	muito	ondulada	verde	vermelha	grande	1637
ACE 037	Ereta	muito	ondulada	verde	vermelha	grande	1459
ACE 038	Ereta	muito	ondulada	arroxeadada	arroxeadada	médio	2024
ACE 039	Ereta	muito	ondulada	verde	vermelha	médio	-
ACE 040	-	-	-	-	-	-	-
ACE 041	-	-	-	-	-	-	-
ACE 042	Intermediária	muito	ondulada	verde	vermelha	médio	1980
ACE 043	Intermediária	muito	ondulada	verde	vermelha	médio	2024

Continuação

ACE 044	Globular	muito	ondulada	arroxeadada	vermelha	grande	1771
ACE 045	Globular	muito	ondulada	arroxeadada	arroxeadada	grande	1161
ACE 046	Ereta	muito	ondulada	arroxeadada	arroxeadada	grande	2470
ACE 047	Intermediária	muito	ondulada	verde	arroxeadada	médio	-
ACE 048	Ereta	muito	ondulada	arroxeadada	vermelha	médio	-

CC = conformação da copa (1-globular; 2-intermediária; 3-Ereta); RC = ramificação da copa (1-Pouco ramificada; 2-ramificada; 3-muito ramificada); FGBF = forma geral dos bordos da folha madura (1- borda reta; 2- borda levemente ondulada; 3- borda ondulada); CCFI = coloração da casca do fruto imaturo (1- verde; 2- verde amarelada; 3- verde arroxeadada; 4- roxa esverdeada; 5- roxa); CCFM = coloração da casca do fruto maduro (1- amarela; 2- laranja; 3- rosa; 4- vermelha; 5- vermelha arroxeadada; 6- roxa); TFM = tamanho do fruto maduro (1- fruto pequeno (12-16 mm); 2- fruto médio (17-23mm); 3- fruto grande (24-30mm) e Vit C = teor de ácido ascórbico (mg/100g).

O grupo I foi representado apenas pelo acesso ACE 001, que se destacou dos demais acessos no teor de ácido ascórbico (2158 mg por 100g de polpa), que foi o quarto maior entre todos os outros. Além dessa variável, esse acesso apresentou a copa muito ramificada, a coloração da casca do fruto imaturo foi verde, a coloração da casca arroxeadada e fisicamente o fruto apresentou tamanho médio (Tabela 15).

Verificou-se uma similaridade entre os grupos de acessos para os descritores avaliados (Tabela 15). Dessa forma, o grupo II agregou 47,92% dos acessos, apresentando 23 indivíduos, sendo eles, os acessos: ACE 035, ACE 034, ACE 014, ACE 042, ACE 038, ACE 008, ACE 006, ACE 036, ACE 012, ACE 040, ACE 010, ACE 0043, ACE 041, ACE 005, ACE 044, ACE 037, ACE 045, ACE 003, ACE 013, ACE 032, ACE 019, ACE 015, e ACE 002. Nesse grupo, 56,25 dos acessos apresentaram conformação da copa ereta e foi verificado que 93,75% dos indivíduos apresentaram a copa muito ramificada e folhas com borda ondulada, exceto o indivíduo ACE 002, o qual apresentava uma copa pouco ramificada e o indivíduo ACE 010, que apresentou folhas com borda levemente ondulada. Com relação à coloração da casca do fruto imaturo, 75% dos acessos apresentaram coloração verde e apenas 10% (quatro indivíduos) obtiveram coloração do tipo verde arroxeadada. Esses resultados foram discordantes quando comparados com Pípulo et al. (2002), que descrevendo três cultivares de acerolas utilizando descritores morfoagronômicos, observaram 100% de similaridade entre os descritores estudados para todas os cultivares selecionados.

O teor de ácido ascórbico dos frutos maduros variou de 1324 mg por 100g de polpa no acesso ACE 010 a 2575 mg por 100 g de polpa com o acesso ACE 014. Esses valores foram muito superiores aos encontrados por Brunini et al. (2004), que registraram teores de ácido ascórbico variando de 243,8 a 818,17 mg por 100g de polpa, em acerolas oriundas de Aparecida do Salto-SP, porém similares aos valores encontrados por Lopes et al. (2000), que encontraram acessos com teor de ácido ascórbico de até 2246 mg/100 g de polpa. De acordo com Bliska & Leite (1995), o teor de ácido ascórbico acima de 1200 mg de por 100g de polpa é tido como um referencial mínimo para a aceitação do produto no mercado externo. Isso demonstra, portanto, o potencial existente entre os acessos de aceroleiras da Pesagro-Rio, as quais se encaixam nos padrões mínimos para exportação.

Ainda, de acordo com a variabilidade morfoagronômica entre os acessos, foi verificada a formação de três grupos compostos por dois acessos cada (Tabela 11). No grupo III encontram-se os acessos ACE 016 e ACE 046, os quais apresentaram copa muito ramificada, borda da corola ondulada e frutos grandes. O acesso ACE 046 apresentou teor de ácido ascórbico de 2470 mg/100g de polpa. Para o grupo V, representado pelos acessos ACE 007 e ACE 020, foram observados conformação da copa ereta e copa muito ramificada, fruto imaturo, com a coloração verde e coloração vermelha arroxeada para o fruto maduro. O grupo VII, com os acessos ACE 021 e ACE 026, apresentou copa muito ramificada, bordas da corola ondulada e frutos com tamanho médio. O grupo VIII, constituído pelos acessos ACE 033 e o ACE 009 apresentaram frutos com teor de ácido ascórbico de 1935 mg/100 g de polpa, bem como caracterizou-se por apresentar frutos de tamanho grande.

O grupo VI, formado pelos acessos ACE 027, ACE 029 e ACE 022, caracterizou-se por apresentar copa muito ramificada. Para Pípolo et al. (2002), a copa da aceroleira selecionada para ser implantada em pomar clonal foi do tipo intermediária. Nesse grupo encontra-se o indivíduo com o segundo maior teor de ácido ascórbico entre todos os analisados (ACE 022 com 2619 mg/100g de polpa).

Os demais grupos foram constituídos por acessos isolados, sendo eles: grupo IX, representado pelo acesso ACE 024; o grupo X, pelo acesso ACE 028; o grupo XI, que agregou o acesso ACE 023; o grupo XII, que foi constituído pelo

acesso ACE 030; o grupo XIII, formado pelo acesso ACE 025 e o grupo XIV representado pelo acesso ACE 017, sendo observado, para esse acesso, a coloração vermelha arroxeadada da casca do fruto maduro e fruto de tamanho grande.

Os resultados mostraram que os acessos divergentes ACE 001, ACE 014, ACE 031, ACE 038, ACE 043 e ACE 046 (Tabela 1, Figura 1) se destacaram dos demais por possuírem um maior número de características de interesse agrônômico, considerados de maior importância comercial, sendo indicados para propagação vegetativa e avaliação clonal, pois apresentaram alto teor de ácido ascórbico, coloração da casca do fruto maduro avermelhada e tamanho do fruto variando entre médio e grande.

Lopes et al. (2000), avaliando características físico-químicas de 112 acessos de aceroleiras, encontraram vários acessos promissores que foram recomendados para avaliação clonal, visando a utilização como variedades. Os autores encontraram frutos com teor de ácido ascórbico variando de 1761 mg a 2220 mg por 100 g de polpa e sólidos solúveis totais, variando de 5,8 a 10,1 de ° Brix.

Pípolo et al. (2000), com objetivo de identificar e selecionar genótipos parentais de aceroleira, baseado na divergência genética multivariada em 14 genótipos conseguiram dividir em três grupos, indicando sete cruzamentos mais promissores com base no teor de ácido ascórbico: AM Mole pertencente ao grupo III, com os genótipos PR AM, N°18, PR 17, PR 16, Eclipse, AM 22 e Dominga, todos pertencentes ao grupo I. Os autores ainda sugeriram que frutos grandes com maior diâmetro resultam na seleção de frutos com maior quantidade de polpa.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com a análise de variáveis multicategóricas dos acessos de aceroleira evidenciam a existência de variabilidade genética para 70.5% dos caracteres estudados.

Foram selecionadas três características quantitativas consideradas de maior importância relativa para o estudo de divergência genética, sendo essas: diâmetro do caule, que demonstrou a maior contribuição relativa, seguidos do comprimento da folha madura e largura máxima da folha.

Frutos no estágio 'de vez' apresentaram maiores valores de teor de ácido ascórbico, independente do acesso, ocorrendo uma redução gradativa até a maturação final do fruto, indicando que há uma clara correlação entre o teor de ácido ascórbico e o estágio de maturação.

A técnica de marcadores RAPD foi eficaz para o estudo de diversidade entre os acessos, mostrando que a população possui ampla variabilidade genética.

Foram encontrados iniciadores com potencial para uso em estudos de diversidade para a cultura da acerola utilizando o marcador do tipo RAPD, pois apresentaram entre seis e oito marcas polimórficas, sendo citados os iniciadores: OPAX-09, OPAX-14, OPAX-16 e OPAB-11.

Os métodos de Otimização de Tocher e UPGMA foram concordantes e satisfatórios para a formação de grupos bastante homogêneos para as

características avaliadas, tanto nos marcadores RPAD como nos caracteres morfoagronômicos.

Houve um aumento de pH e SST entre os acessos do estágio de 'vez' para o estágio semimaduro.

Os resultados mostraram que os acessos ACE 001, ACE 014, ACE 031 ACE 038, ACE 043 e ACE 046 podem ser indicados para propagação vegetativa e avaliação clonal, pois apresentaram alto teor de ácido ascórbico, coloração da casca do fruto maduro avermelhada e tamanho grande do fruto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves, R. E. & Menezes, J. B. (1995) Botânica da aceroleira. In: São José, A. R. & Alves, R. E. ed. Acerola no Brasil: Produção e Mercado. Vitória da Conquista BA, UESB, p.7-14.

Alves, R. E., Menezes, J. B., Silva, S. M. (1995) Colheita e pós-colheita da acerola. In: São José, A.R., Alves, R.E. Acerola no Brasil: produção e mercado. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, p. 77-89.

Alves, R. E. (1996) Características das frutas para exportação. In: Gorgatti Netto, A., Ardito, E. F. G., Garcia, E. E. (Eds.) Acerola para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita. Brasília: EMBRAPA-SPI. p.9-12. (Série Publicações técnicas FRUPEX, 21).

Amaral Júnior, A. T. (1994) Análise multivariada isoenzimática da divergência genética entre acessos de moranga (*Cucurbita maxima* Duchesne). 95 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Andrade, J. M. B., Brandão Filho, J. V. T., Vasconcelos, M. A. S. (1995) Efeito da poda na produtividade da aceroleira (*Malpighia glabra* L.) no primeiro ano. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Cruz das Almas, v.17, n.2, p.45-49.

Association of Official Analytical Chemical (1970) Official methods of analysis. Washington, 101. 5p.

Association of Official Analytical Chemical (1984) Official Methods of Analysis. Washington, 101. 5p.

Araújo, P. S. R., Minami, R. (1994) *Acerola*. Campinas: Fundação Cargil, 81p.

Araújo, E. S., Santos, A. M., Areias, R. G. B. M., Souza, S. R., Fernandes, M. S (2003). Uso de RAPD para análise de diversidade genética em arroz. *Agronomia*, V.37, Nº1, P.33 - 37.

Asenjo, C. F. (1980) *Acerola*. In: Nagy, S., Shaw, P. E. *Tropical and subtropical fruits: composition, properties and uses*. Westport. AVI. p. 341-74.

Assis, S. A., Lima, D. C., Oliveira, O. M. M. F. (2001) Activity of pectinmethylesterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at various stages of fruit development. *Food Chemistry*, v.74, p.133-137.

Batista, F. S., Muguet. B. R. R. Beltrão. (1991) A. E. S. Comportamento e seleção de aceroleira na Paraíba . In: Congresso Brasileiro de Fruticultura. 9. Fortaleza, 1989. Anais p. 26-32

Bento, C. S., Sudré, C. P., Rodrigues, R., Riva, E. M., Pereira, M. G. (2007) Descritores qualitativos e multicategóricos na estimativa da variabilidade fenotípica entre acessos de pimentas. *Scientia Agraria*, v.8, n.2, p.149-156.

Blank, A. F., Carvalho Filho, J. L. S., Santos Neto, A. L., Alves, P. B., Arrigoni-Blank, M. F., Silva-Mann, R., Mendonça, M. C. (2004) Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjerição e alfavaca. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.22, n.1, p. 113-116, jan-mar 2004.

Bliska, F. M. M., Leite, R. S. S. F. (1995) Aspectos econômicos e mercado. In: São José, A. R. , Alves, R. E. Acerola no Brasil: produção e mercado. Vitória da Conquista: UESB, 1985.45p

Bosco, J., Filho, A. S. P., Neto, M. B. (1994) Características fenológicas de plantas de aceroleira, In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, Salvador, BA, v.1, p.87.

Brunini, M. A., Macedo, N. B., Coelho, C. V., Siqueira, G. F. (2004) Caracterização física e química de acerolas provenientes de diferentes regiões de cultivo. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 26, n. 3,p. 486-489.

Cavalcante, H. C., Bff, T., Dornelles, A. L.C., Oliveira, J. R. P. (1998) Análise citogenética de oito genótipos de acerola (*Malpighia puniceifolia* L) In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 15, Poços de caldas, MG. Anais do congresso

Carpentieri-Pípolo, V., Prete, C. E. C., Gonzalez, M. G. N. (2002) Novas cultivares de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). UEL 3 (Dominga) - UEL 4 (Lígia) - UEL 5 (Natália). Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v.24, n.1, p.124-126.

Carvalho, W., Fonseca, M. E. N., Silva, H. R., Boiteux, L. S., Giordano, L. B. (2005) Estimativa indireta de teores de licopeno em frutos de genótipos de tomateiro via análise colorimétrica. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.232 n.3, p.819-825, jul-set

Carvalho, R. A. (2000) Análise econômica da produção de acerola no município de Tomé-Açú, Pará. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. 21p. (Documento, 49)

Coelho, Y. S., Ritzinger, R., Oliveira, J. R. P. (2003) Proacerola: Programa de desenvolvimento da Cultura da Acerola no Estado da Bahia. In: Reunião Anual da Sociedade Interamericana de Horticultura Tropical, 49, Fortaleza, Abstract. Fortaleza: Sociedade Interamericana de Horticultura Tropical, 303p.

Choer, E., Silva, J. B. (2000) Avaliação da diversidade genética entre acessos de *curcubita* ssp. através de análise multivariada. Agropecuária de Clima Temperado, Pelotas. V.3 p. 213-219

Conceição, M. P. J. (1997) Cinética de degradação térmica de antocianinas em suco de acerola (*Malpighia glabra* L.). Viçosa, 59p. Dissertação de Mestrado- Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Costa, A. P. (2004) Avaliação de características agrônômicas em variedades e de diversidade molecular em variedades, híbridas e espécies de videira. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF. Campos dos Goytacases, RJ. 95 p.:il

Costa, F. R. (2004) Diversidade genética entre acesso de *Capsicum* ssp com base em RAPD. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

Cruz, C. D, Carneiro, P. C. S. (2003) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, v.2.p 415.

Cruz, C. D. (2006) Programa Genes: análise multivariada e simulação. Viçosa: ed. UFV. 175p.:il

Cruz, C.D., Regazzi, A.J. (1997) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, 390p.

Donadio, L. C., Nachtigal, J. C., Sacramento, C. K. (1998) Frutas exóticas. Jaboticabal: Funep, 279p.

Doyle, J. J. & Doyle, J. L. (1997) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, v.12:13-15.

De Rosso, V. V., Mercadante, A. Z. (2005) Carotenoid composition of two Brazilian genotypes of acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) from two harvests. *Food Research International*, v. 38, n. 8-9, p. 1073-1077, 2005.

Emygdio, B. M, Antunes, I. F, Nedei, J. L, Choer, E. (2003) Diversidade genética em cultivares locais e comerciais de feijão baseada em marcadores RAPD. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 38, p.1165-1171.

Ferreira, M. E., Grattapaglia, D. (1998) *Introdução ao Uso de Marcadores Moleculares em Análise Genética*. Brasília: Embrapa - Cenargem, 3º edição, 220p.

Folegatti, M. I. S., Matsuura, F. C. A. U. (2003) Produtos. In: Ritzinger, R., Kobayashi, A. K., Oliveira, J.R.P (eds) *A cultura da aceroleira*. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p. 164-184.

Fontes, P. S. F. (2002) *Adubação nitrogenada e avaliação de cultivares de banana (musa spp.) no Noroeste do Estado do Rio de Janeiro*. Tese (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 64p.

França, V. C., Narain, N. (2003) Caracterização química dos frutos de três matrizes de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.23, n.2, p. 157-160.

Gomes, J. E. , Perecin, D., Martins, A. B. G. , Almeida, E. J. (1998) Correlações e efeitos diretos e indiretos no processo seletivo na cultura da aceroleira. In: *Congresso Brasileiro de Fruticultura*, 15, Poços de Caldas, MG. Anais do congresso.

Gomes, J. E., Pavani, M. C. M. S, Perecin, D., Martins, A. B. G. (2001) Morfologia Floral e biologia reprodutiva de genótipos de aceroleira. In: *scientia agrícola*, v. 58, n.3, p. 519 – 523.

- IBRAF - Instituto Brasileiro de Frutas (1995). Soluções fruta a fruta: acerola. 59p.
- Jolliffe, I. T. Discarding variables in a principal component analysis (1973). II. Real data. *Appl. Stat.*, v.22, p.21-31.
- Loarce, Y., Gallego, R., Ferrer, E. A. (1996) comparative analysis of the genetic relationship between rye cultivars using RFLP and RAPD markers. *Euphytica*, Wageningen, v. 88, p. 107-115.
- Lima, V. L. A. G., Melo, E. A. M., Gerra, N. B. (2007) Correlação entre o Teor de Antocianinas e Caracterização Cromática de Polpas de Diferentes Genótipos de Aceroleira. *Braz. J. Food Technol.*, Campinas, v. 10, n. 1, p. 51-55, jan./mar.
- Lima, V. L. A. G., Mélo, E. A., Maciel, M. I. S., Prazeres, F. G., Musser, R. S., Lima, D. E. S. (2005) Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. *Food Chemistry*, v. 90, n. 4, p. 565–568
- Lima, V. L. A. G., Melo, E. A., Maciel, M. I. S., Lima, D. E. S. (2003) Avaliação do teor de antocianinas em polpa de acerola congelada proveniente de frutos de 12 diferentes aceroleiras (*Malpighia emarginata* D.C.). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 23, n. 1, p. 101-103.
- Lopez Camelo, A. F., Gómez, P. A (2004) Comparison of color indexes for tomato ripening. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.22, p.534-537.
- Lopes, R., Paiva, J. R. (2002) Aceroleira. In: Bruckner, C.H. Melhoria de Fruteiras Tropicais. Editora Universidade Federal de Viçosa/UFV. p. 63-99.
- Lopes, R, Bruckner, C. H, Lopes, M. T. G. (2002). Estimação da taxa de cruzamento da aceroleira com base em dados isoenzimáticos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 37 no Brasília.

Lopes, R., Bruckner, C. H., Finger, F. L., Lopes, M. T. G. (2000) Avaliação de características do fruto de acessos de aceroleira. *Revista Cers*, v.47, n.274, p.627-638.

Martinello, G. E., Leal, N. R., Amaral Júnior, A. T., Pereira, M. G., Daher, R. F. (2003) Diversidade genética em quiabeiro baseada em marcadores RAPD. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 21, n. 1, p. 20-25.

Matsuura, F. C. A. U., Cardoso, R. L., Folegatti, M. I. S., Oliveira, J. R. P., Oliveira, J. A. B., Santos, D. B. (2003) Avaliações físico-químicas em frutos de diferentes genótipos de acerola (*Malpighia puniceifolia* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal v.23 , n.3, p.602-606.

Marty, G. N. E Pennock, W. (1965) Práticas agrônômicas para el cultivo comercial de acerola em Puerto Rico. *Revista de Agricultura de Porto Rico*, 52: 107-111.

Milach, S. C. K. (1998) Marcadores moleculares em plantas. Porto Alegre, 141p.

Moreira, J. A. N., Santos, J. W., Oliveira, S. R. M. (1994) Abordagens e metodologias para avaliação de germoplasma. Campina Grande: Embrapa-CNPA, 115 p.

Modesta, R. C., Gonçalves, E. B., Rosenthal, A., Silva, A. L. S., Ferreira, J. C. S. (2005) Desenvolvimento do perfil do maracujá, *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 25(2): 345-352, abr.-jun. 2005

Moura, C. F. H., Alves, R. E., Figueiredo, R. W., Paiva, J. R. (2007) Avaliações físicas e físico-químicas de frutos de clones de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.) *Revista Ciência Agronômica*, v.38, n.1, p.52-57,

Nass, L. L. (2001) Utilização de recursos genéticos vegetais no melhoramento. In: NASS, L. L. et al. (Ed.) Recursos genéticos e melhoramento. Rondonópolis, UFMT. 1183p.

Neto, G. L. Melhoramento genético da aceroleira. (1995b) In: São José, A. R., Alves, R. E. (ed.) Acerola no Brasil, produção e mercado. Vitória da Conquista 3/4 BA: UESB, 160p.

Nogueira, R. J. M. C. (1997) Expressões Fisiológicas da Aceroleira (*Malpighia emarginata* D. C.) em condições adversas. São Carlos, 207p. Tese (Doutorado) – Universidade de São Carlos.

Nogueira, R. J. M. C., Moraes, J. A. P. V., Burity, H. A. (2002) Efeito do estágio de maturação dos frutos nas características físico-químicas de acerola. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.37, n.4, p.463-470.

Oliveira, L. S., Rabelo, C. R., Aguiar, R. A., Moura, C. F. H., Miranda, M. R. A. (2007) Avaliação da qualidade pós-colheita e atividade de enzimas antioxidante em seis clones de acerola (*Malpighia emarginata* D. C) In: II Simpósio Brasileiro de Pós-Colheita de Frutas, Hortaliças e Flores. V. 2. p.382, Viçosa-MG

Oliveira, M. S. P, Amorim, E. P, Santos, G. B, Ferreira, D. F. (2007) Diversidade genética entre acessos de açaizeiro baseada em Marcadores RAPD. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 31, n. 6, p. 1645-1653.

Oliveira, J. R. P., Soares Filho, W. S. (1998) Situação da cultura da acerola no Brasil e ações da Embrapa Mandioca e Fruticultura em recursos genéticos e melhoramento. In: Simpósio de Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas Para o Nordeste do Brasil, Petrolina, Anais... Petrolina: Embrapa SemiÁrido.

Oliveira, J. R. P., Soares Filho, W. S., Cunha, R. B. (1998) Guia de descritores de acerola: versão preliminar. Cruz das Almas, BA: Embrapa – CNPMF, 22 p. (Documento, 84).

Paiva, J. R., Alves, R. E., Santos, F. J. S. S., Barros, L. M., Almeida, A. S., Moura, C. F. H. M., Bezerra C. J., Pereira N. N. (2003) Seleção Preliminar de Clones de Aceroleira No Estado do Ceará Ciênc. agrotec., Lavras. V.27, n.5, p.1038-1044.

Paiva, J. R., Alves, R. E., Correa, M. P. F., Freire, F. C. O., Braga Sobrinho, R. (1999a) Seleção massal de acerola em plantio comercial. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.34, n.3, p.505-511.

Paiva, J.R., Alves, R.E., Santos, F.J.S. (2002) Desempenho de clones de acerola no Estado do Ceará. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 17, Belém, Anais... Belém: SBF, CD-ROM.

Pípolo, V.C., Destro, D., Prete, C.E.C., Gonzales, M.G.N., Popper, I., Zanatta, S., Silva, F.A.M. (2000) Seleção de genótipos parentais de acerola com base na divergência genética multivariada. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.35, n.8, p.1613-1619.

Rosa, M. S., Santos, P. P., Veasey, E. A.(2006) Caracterização Agromorfológica Interpopulacional Em *Oryza Glumaepatula*. Bragantia, Campinas, V.65, N.1, P.1-10.

Ruas, P. M., Ruas, C. F., Fairbands, J. D., Andersen, R. W., Cabral, J. R. S. (1995) Genetic relationship among four varieties of pineapple, *Ananas comosus*, revealed by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. Brazilian Journal of Genetics, Ribeirão Preto, v. 18, n. 3, p. 413 - 416.

Salla, M. F. S., Ruas, C. F., Ruas, P. M., Pípolo, V. C. (2002) Uso de marcadores moleculares na análise da variabilidade genética em acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal v.24, n.1, p.015-022.

Sawazaki, H. E., Wilson Barbosa, W., Colombo, C. A. (2002) Caracterização e identificação de cultivares e seleções de pereiras através de marcadores RAPD Rev. Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP, v. 24, n. 2, p. 447-452.

Simão, S. (1971) Manual de fruticultura. São Paulo: Agronômica Ceres, 530p.

Shimoya, A., Pereira, A. V., Ferreira, R. P., Cruz, C. D., Carneiro, P. C. S. (2002) Repetibilidade de características forrageiras do capim-elefante. *Scientia Agricola*, 59:227-234.

Soares Filho, W. S., Oliveira, J. R. P. (2003) Introdução. In: Ritzinger, R., Kobayashi, A. K., Oliveira, J. R. P (eds) *A cultura da aceroleira*. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p. 15-16.

Souza, C. M. P., (2006) DNA Fingerprint" via marcadores RAPD e avaliação da divergência genética em genótipos de bananeira (*Musa spp.*) Tese (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Sudré, C. P., Cruz, C. D., Rodrigues, R., Riva, E. M., Júnior, A. T. A., Silva, D. J. H. Da, Pereira, T. N. S. (2006.) Variáveis multicategóricas na determinação da divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 24, n. 1, p. 88-93, jan./mar.

Sudré, C. P, Rodrigues, R., Riva, E. M., Karasawa, M., Amaral Júnior, A. T. (2005) Divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão utilizando técnicas multivariadas. *Horticultura Brasileira*, v.23, n1, 22-27p.

Ulanovsky, S. (2002) Use of molecular markers in detection of synonymies and homonymies in grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v.92, p.241-254.

Viana, A. P., Pereira, T. N. S., Pereira, M. G., Amaral Jr, A. T., Souza, M. M., Maldonado, J. F. M. (2003) Diversidade genética entre genótipos comerciais de maracujazeiro-amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de *Passifloras* nativas determinada por marcadores RAPD. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal v. 25, n. 3, p.489-493.

Vieira, E. A., Fialho, J. De F., Faleiro, F. G., Fukuda W. M. G., Junqueira N. T. V. (2005) Variabilidade genética para caracteres morfológicos entre acessos do

banco de germoplasma de mandioca da Embrapa Cerrados. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 11, 2005b, Campo Grande. Anais... Campo Grande, MS. 1CD-ROM.

Yamashita, F., Benassi, M.T., Tonzar, A.C. (2003) Produtos de acerola: estudos da estabilidade de vitamina C. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.23, n.1, p.92-94.

Wadt, L.H.O. (1997) Avaliação de divergência genética em coqueiro (*cocos nucifera* L.) usando marcadores em amostras compostas de plantas individuais ou compostas. 1997, UENF, dissertação de mestrado

Wolf, A. B., Macrae, E. A., Spooner, K. I., Redewell, R. J. (1997). Changes to physical properties of the cell wall and polyuronides in response to heat treatment of 'Fuyu' persimmon that alleviate chilling injury. *Journal of American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v. 122, p. 698-702.