



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
UNIDADE ACADÊMICA ESPECIALIZADA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - UAECIA
ESCOLA AGRÍCOLA DE JUNDIAÍ - EAJ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS



Nº 092

**SELEÇÃO DE ÁRVORES MATRIZES DE
Amburana cearensis (Allemão) A.C.Sm.
PARA PRODUÇÃO DE SEMENTES E CONSERVAÇÃO *in situ***

JÉSSICA SABRINA OVÍDIO DE ARAÚJO

Macaíba/RN
Agosto de 2021

JÉSSICA SABRINA OVÍDIO DE ARAÚJO

**SELEÇÃO DE ÁRVORES MATRIZES DE *Amburana cearensis* (Allemão) A.C.Sm.
PARA PRODUÇÃO DE SEMENTES E CONSERVAÇÃO *in situ***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Florestais (Área de Concentração em Ciências Florestais - Linha de Pesquisa: Sementes, Propagação e Fisiologia de Espécies Florestais).

Orientador:

Prof. Dr. Mauro Vasconcelos Pacheco

Coorientadores:

Dr^a. Cristiane Gouvêa Fajardo

Dr. Fernando dos Santos Araújo

Macaíba/RN
Agosto de 2021

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN
Sistema de Bibliotecas - SISBI
Catalogação de

Araújo, Jéssica Sabrina Ovídio de.

Seleção de árvores matrizes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C.Sm. para produção de sementes e conservação in situ / Jéssica Sabrina Ovídio de Araújo. - 2021.
92f.: il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais. Macaíba, RN, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Mauro Vasconcelos Pacheco.

Coorientadora: Dra. Cristiane Gouvêa Fajardo.

Coorientador: Dr. Fernando dos Santos Araújo.

1. Sementes florestais - Dissertação. 2. Espécies ameaçadas - Dissertação. 3. Florestas secas - Dissertação. 4. Cumaru - Dissertação. 5. Conservação genética - Dissertação. 6. Restauração florestal - Dissertação. I. Pacheco, Mauro Vasconcelos. II. Fajardo, Cristiane Gouvêa. III. Araújo, Fernando dos Santos. IV. Título.

RN/UF/BSPRH

CDU 631.53.02

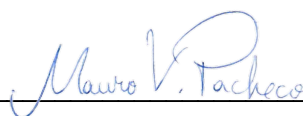
Elaborado por Elaine Paiva de Assunção - CRB-15/492

**SELEÇÃO DE ÁRVORES MATRIZES DE *Amburana cearensis* (Allemão) A.C.Sm. PARA
PRODUÇÃO DE SEMENTES E CONSERVAÇÃO *in situ*.**

Jéssica Sabrina Ovídio de Araújo

Dissertação julgada para obtenção do título de Mestre em Ciências Florestais (Área de Concentração em Ciências Florestais - Linha de Pesquisa: Sementes, Propagação e Fisiologia de Espécies Florestais) e aprovada pela banca examinadora em 31 de agosto de 2021.

Banca Examinadora



Prof. Dr. Mauro Vasconcelos Pacheco

UAECIA/UFRN

Presidente



Dr^a. Cibele dos Santos Ferrari

Examinador externo à instituição



Dr. Givanildo Zildo da Silva

Universidade Federal de Jataí - UFJ

Examinador externo à instituição

Macaíba/RN
Agosto de 2021

A Deus - o autor da minha vida. Aos meus pais, Ocion Cardoso de Araújo e Clauciene Ovídio Pereira de Araújo (in memorian), por todo amor, confiança, compreensão, apoio e valiosos ensinamentos em todos os momentos da minha vida.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço

Primeiramente a Deus pela vida, pelo amor incondicional e por me sustentar todos os dias!

Aos meus pais, Ocion Cardoso de Araújo e Clauciene Ovídio Pereira de Araújo (*in memoriam*), que são os principais responsáveis pela minha formação como pessoa, pelos ensinamentos dos verdadeiros valores de uma vida, por sempre me incentivarem em tudo e me ensinarem a nunca desistir, por serem o meu maior motivo de acordar com um imenso sorriso e lutar com todas as minhas forças. (Para sempre amarei vocês!).

À minha irmã Jayane Karine, por ser minha melhor companhia e por todo amor.

Aos melhores avós que Deus poderia me presentear, João Ovídio Filho, Nazaré Ovídio Pereira e Inês Eunice da Costa, por nunca medirem esforços para realização dos meus sonhos.

Aos meus tios (as), Cláudio Marcos Ovídio, Clécio Ovídio Pereira e Claubiana Ovídio de Oliveira: vocês são incríveis, não tenho palavras para agradecer a cada um por sempre estarem presentes em minha vida e pelo apoio em todos os momentos.

Ao meu namorado Éder do Nascimento, por todo amor e companheirismo.

À professora Rosimeire Cavalcante, pelo incentivo e amizade.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Florestais da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro para realização desse projeto de pesquisa (Projeto Universal 437955/2018-4) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, pelo apoio para execução dessa pesquisa de dissertação.

Agradeço ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) e à administração da FLONA de Açú, pelo apoio prestado nas atividades de campo.

Aos proprietários das áreas rurais onde as sementes foram coletadas: Dona Izabel Amélia de Araújo (Sítio Manoel de Sousa, em Soledade/PB), Aubeny de Andrade Arruda (Fazenda Açude, em Soledade/PB), João Ovídio e Nazaré Ovídio (Sítio Bom Jesus, em Caicó/RN), pela concessão deste estudo em suas propriedades e por sempre nos receberem com imenso carinho.

Ao meu orientador Mauro Vasconcelos Pacheco e meus coorientadores Cristiane Gouvêa Fajardo e Fernando dos Santos Araújo, pelas orientações e ricas contribuições de conhecimento.

Ao MSc. Francival Cardoso Felix, pela colaboração na análise dos dados e interpretação dos resultados.

Ao Grupo de Estudos em Sementes Florestais (GESFLOR), pelo apoio e contribuição para realização dessa pesquisa.

Ao Laboratório de Genética e Melhoramento Florestal (LabGeM), em especial ao prof. Dr. Fábio de Almeida Vieira e à MSc. Luciana Pinheiro, e ao Grupo de estudos em Tecnologia de Sementes (GETSem) da Escola Agrícola de Jundiaí/UFRN, pela colaboração na execução das atividades deste projeto.

Aos meus colegas de mestrado, pela amizade, em especial à Ornela Gomes, Francisco Eudes, Patrícia Balduino, Álvaro Freire.

RESUMO GERAL

SELEÇÃO DE ÁRVORES MATRIZES DE *Amburana cearensis* (Allemão) A.C.Sm. PARA PRODUÇÃO DE SEMENTES E CONSERVAÇÃO *in situ*

Amburana cearensis (Allemão) A.C.Sm. (Fabaceae) é uma espécie nativa da Caatinga ameaçada de extinção. Dessa forma, estudar as populações naturais remanescentes é imperativo para auxiliar na sua conservação. Assim, objetivou caracterizar populações naturais de *A. cearensis* para apoiar estratégias de conservação *in situ* e coleta de sementes desta espécie. Três populações foram selecionadas para o estudo, sendo uma no Estado da Paraíba (Soledade) e duas, no Rio Grande do Norte (Caicó e Assu). A qualidade das sementes produzidas pelas árvores da população de Soledade foi analisada com a perspectiva de selecionar árvores matrizes para coleta de sementes e as três populações foram caracterizadas geneticamente para apoiar estratégias de conservação *in situ* e coleta de sementes. Ao considerar apenas a população de Soledade, das 17 árvores que produziram sementes, apenas 29% dos indivíduos atendem a requisitos de diversidade genética e qualidade física e fisiológica como árvores matrizes com vistas à produção de sementes e conservação da espécie. Ao analisar o perfil de amplificação de 30 iniciadores moleculares ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) verificou-se que apenas doze deles revelaram *loci* com boa resolução, reprodutíveis e com elevado polimorfismo (83- 100 %). Esse conjunto de iniciadores revelou 89 *loci* com 98,8% de polimorfismo, sendo essa quantidade suficiente para detectar polimorfismo genético com base na técnica de reamostragem. Os índices de diversidade genética avaliados foram porcentagem de polimorfismo (%P_L), valor de conteúdo de informação polimórfica (PIC), índice de diversidade genética de Nei (H_e), índice de Shannon (I), heterozigosidade total (H_t), diferenciação genética (G_{ST}) e fluxo gênico. Foram encontrados valores informativos e satisfatórios para índices de diversidade genética para as árvores da população de Caicó (%P_L = 69,3; H_e = 0,152; I = 0,232), Soledade (%P_L = 80,8; H_e = 0,225; I = 0,338) e Assu (%P_L = 73,7; H_e = 0,240; I = 0,350). Entretanto, para diversidade genética de Nei (H_e = 0,364), índice de Shannon (I = 0,539), heterozigosidade total (H_t = 0,371) e diferenciação genética (G_{ST} = 0,447) apenas entre as populações esses valores foram moderadamente satisfatórios. O fluxo gênico foi baixo (N_m = 0,620), indicando isolamento ou fragmentação das populações. Para caracterização morfométrica de Caicó, Soledade e Assu, houve diferença significativa apenas para altura, em que foram observadas classes de árvores mais altas, indicando estágio ontogenético avançados das árvores. A partir do agrupamento da identidade genética de Nei de um ponto de 0.87, foi possível identificar a formação de 28 grupos bem definidos. Portanto, a partir dos resultados obtidos foi possível caracterizar todas

as populações de *A. cearensis* como potenciais produtoras de sementes e diversidade genética satisfatória para coleta de sementes e conservação *in situ* da espécie.

Palavras-chave: sementes florestais, florestas secas, espécies ameaçadas de extinção, áreas de coletas de sementes, conservação genética.

GENERAL ABSTRACT

SELECTION OF MATRIX TREES OF *Amburana cearensis* (Allemão) A.C.Sm. FOR SEED PRODUCTION AND *in situ* CONSERVATION

Amburana cearensis (Allemão) A.C.Sm. (Fabaceae) is a native species of the endangered Caatinga. Thus, studying how natural populations remain is imperative to assist in conservation. Thus, it aimed to characterize natural populations of *A. cearensis* to support the organization of *in situ* conservation and collection of seeds of this species. Three selected were selected for the study, one in the State of Paraíba (Soledade) and two in Rio Grande do Norte (Caicó and Assu). The quality of seeds produced by trees in the population of Soledade was analyzed with the perspective of selecting matrix trees for seed collection and three sources were genetically characterized to support *in situ* conservation and seed collection. that produced seeds, only 29% of the requirements meet the requirements of genetic diversity and physical and physiological quality as parent trees with a view to seed production and conservation of the species. By analyzing the amplification profile of 30 ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) molecular primers, it was found that only twelve of them revealed loci with good resolution, reproducible and with high polymorphism (83-100%). This set of primers revealed 89 loci with 98.8% polymorphism, this amount being sufficient to detect the genetic polymorphism based on the resampling technique. The genetic diversity indices were polymorphism percentage (% P_L), polymorphic information content value (PIC), Nei genetic diversity index (H_e), Shannon index (I), total heterozygosity (H_t), genetic differentiation (G_{ST}) and gene flow. Informative and satisfactory values were found for genetic diversity indices for trees in the Caicó population (% P_L = 69.3; H_e = 0.152; I = 0.232), Soledade (% P_L = 80.8; H_e = 0.225; I = 0.338) and Assu (% P_L = 73.7; H_e = 0.240; I = 0.350). However, Nei genetic diversity (H_e = 0.364), Shannon index (I = 0.539), total heterozygosity (H_t = 0.371) and genetic differentiation (G_{ST} = 0.447) just between as these values were moderately satisfactory. Gene flow was low (N_m = 0.620), indicating isolation or fragmentation of populations. For morphometric characterization of Caicó, Soledade and Assu, there was only difference for height, in which taller tree classes, advanced ontogenetic stage of the trees were observed. From the genetic identity group of Nei of a point of 0.87, it was possible to identify a formation of 28 well-defined groups. Therefore, from the results obtained, it was possible to characterize all sources of *A. cearensis* as potential seed producers and satisfactory genetic diversity for seed collection and *in situ* conservation of the species.

Keywords: forest seeds, dry forests, endangered species, seed collection areas, genetic conservation.

SUMÁRIO

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO GERAL | 1 |
| 2. OBJETIVO GERAL | 4 |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA | 6 |
| 3.1. Descrição da espécie | 6 |
| 3.2. Usos e potencialidades..... | 7 |
| 3.3. Conservação <i>in situ</i> | 7 |
| 3.4. Iniciadores moleculares ISSR para estudos de diversidade genética | 8 |
| 3.5. Produção de mudas por sementes..... | 9 |
| 3.6. Seleção de matrizes para produção de sementes | 10 |
| 3.6.1. Qualidade de sementes | 11 |
| LITERATURA CITADA | 14 |
| 4. CAPÍTULO 1. SELEÇÃO DE ÁRVORES DE <i>Amburana cearensis</i> (ALLEMÃO) A.C.SM PARA PRODUÇÃO DE SEMENTES | 24 |
| RESUMO | 25 |
| ABSTRACT..... | 25 |
| INTRODUÇÃO..... | 26 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 27 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 32 |
| CONCLUSÕES..... | 37 |
| AGRADECIMENTOS | 37 |
| REFERÊNCIAS | 37 |
| 5. CAPÍTULO 2. DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS DE <i>Amburana cearensis</i> (ALLEMÃO) A.C.SM NA CAATINGA | 45 |
| RESUMO..... | 46 |
| ABSTRACT..... | 47 |
| INTRODUÇÃO..... | 48 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 49 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 53 |
| CONCLUSÕES..... | 61 |
| AGRADECIMENTOS | 61 |
| REFERÊNCIAS | 61 |
| ANEXO 1. NORMAS DA REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DOS ARTIGOS DOS CAPÍTULO 1 e 2 | 70 |

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Fruto maduro do fruto tipo vagem com abertura deiscente e dispersão anemocórica 28
- Figura 2.** Sementes de *A. cearensis* separadas do meio líquido (A) para adição da solução indicadora no teste de pH do exsudato (B). 30
- Figura 3.** Dendrograma da identidade genética de Nei de 17 indivíduos de *A. cearensis* provenientes de Soledade, Estado da Paraíba, Brasil. 35

CAPÍTULO 2

- Figura 1.** Blox-plot para parâmetros de altura (H) (A) e diâmetro na altura do peito (DAP) (B) das árvores de *A. cearensis* nas populações de Caicó, Soledade e Assu..... 53
- Figura 2.** Distribuição da frequência em diferentes classes de altura (H) e circunferência na altura do peito (DAP) encontradas nas árvores de *Amburana cearensis* localizadas em Soledade, (Paraíba), Assu e Caicó (Rio Grande do Norte), Brasil..... 54
- Figura 3.** Valores da correlação de Pearson (r) e estresse de Kruskal (E) em função do número de loci ISSR usados para estimar a diversidade genética de 64 indivíduos de *A. cearensis*.. 57
- Figura 4.** Dendrograma da identidade genética de Nei de 64 indivíduos de *A. cearensis* provenientes de Soledade (Paraíba), Assu e Caicó (Rio Grande do Norte), Brasil..... 60

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Aspectos fisiológicos das sementes de *A. cearensis* provenientes de Soledade, Estado da Paraíba, Brasil... 33

Tabela 2. Seleção das árvores matrizes conforme os critérios de diversidade genética e qualidade fisiológica de *A. cearensis*.... 36

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Caracterização das áreas das populações de *A. cearensis* amostradas em Soledade (Paraíba), Assu e Caicó (Rio Grande do Norte), Brasil. 49

Tabela 2. Nome, sequência de nucleotídeos e número de *loci* amplificados por 30 iniciadores ISSR usando amostras de DNA em bulk de *A. cearensis*.. 55

Tabela 3. Número total de *loci*, número de *loci* polimórficos (P_L), taxa de polimorfismo ($\%P_L$), valor do conteúdo de informação polimórfica (PIC) em cada um dos doze iniciadores ISSR para 64 indivíduos de *A. cearensis*. 57

Tabela 4. Índice de diversidade genética de Nei (H_e), índice de Shannon (I), heterozigidade total (H_t), diferenciação genética (G_{ST}) e fluxo gênico (N_m) em cada um dos doze iniciadores ISSR para 64 indivíduos de *A. cearensis* provenientes de Soledade (Paraíba), Assu e Caicó (Rio Grande do Norte), Brasil..... 58

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA – Análise de Variância Paramétrica

CTAB – Brometo de Cetiltrimetilamônio

DAP – Diâmetro na altura do peito

DAS – Diâmetro a altura do solo

DIC – Delineamento Experimental Inteiramente Casualizado

FLONA – Floresta Nacional

ISSR – Inter Repetições de Sequências Simples

IVE – Índice de velocidade de emergência

IVG – Índice de velocidade de germinação

PCR – Reação em Cadeia de Polimerase

RAPD – DNA Polimórfico Amplificado ao Acaso

RAS – Regras para Análise de Sementes

RENAM – Registro Nacional de Áreas e Matrizes

SISGEN – Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

SNSM – Sistema Nacional de Sementes e Mudas

UPGMA – Agrupamento Não-ponderado aos Pares Utilizando Médias Aritméticas

Introdução Geral

1. INTRODUÇÃO GERAL

Amburana cearensis (Allemão) A.C.Sm. (Fabaceae) é uma árvore nativa da Caatinga nordestina popularmente conhecida por “cumaru” ou ‘imburana-de-cheiro”, (MAIA, 2012; MENDES et al., 2019). Esta espécie tem sido amplamente utilizada para diversos fins na carpintaria, perfumaria, na medicina popular, na produção industrial de fitoterápicos (MAIA, 2012) e em estudos farmacêuticos usando extratos das sementes (OLIVEIRA et al., 2020)

Apesar da relevância da *A. cearensis* na Caatinga, estudos sobre a produção de sementes, diversidade genética e fenotípica dessa espécie são escassos, sendo necessária a elaboração de estratégias de conservação. Dentre estas, podem ser elencadas a seleção de árvores matrizes associada às análises de diversidade genética, as quais são importantes para se obter sementes com qualidade superior nos níveis físicos, fisiológicos e genéticos (FELIX et al., 2020). Essas matrizes podem ser oriundas de Áreas de Coletas de Sementes e selecionadas por meio de análises morfológicas e moleculares, fornecendo informações importantes para a taxonomia, conservação das espécies e estudos de variabilidade genética (COSTA et al., 2016). Concomitantemente, a utilização de testes que proporcionem a obtenção de resultados quanto á viabilidade e o vigor das sementes são essenciais para a seleção e obtenção de mudas com qualidade.

As Regras para Análises de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009) e as Instruções para Análises de Sementes de Espécies Florestais (BRASIL, 2013) estabelecem metodologias para os estudos com sementes florestais. No caso do teste de germinação, este torna-se útil para avaliar a capacidade de germinação, no entanto, não subsidia informações sobre o vigor das sementes (BEWLEY et al., 2013).

Além dos testes de germinação e de tetrazólio, o teste do pH do exsudato é outro teste de viabilidade. Trata-se de uma técnica de baixo custo se comparada ao teste de tetrazólio (RAMOS et al., 2012); e apresenta rapidez na obtenção de resultados quando comparado ao teste de germinação, o qual pode demorar semanas para ser concluído em função da espécie florestal.

Os testes de vigor permitem identificar os lotes com maior ou menor probabilidade de apresentarem melhor desempenho no campo ou durante o armazenamento e quando aliado ao teste de germinação, tornam-se ferramentas essenciais para determinar a qualidade das sementes (GUEDES et al., 2010), auxiliando o viveirista na tomada de decisão enquanto o destino dos lotes de sementes, quer seja para fins de armazenamento dos lotes vigorosos e/ou para comercialização/utilização dos lotes de baixo vigor.

Dentre os testes de vigor, destaca-se o de condutividade elétrica, que pode fornecer informações relacionadas à qualidade fisiológica das sementes de diferentes lotes, tendo como princípio que sementes menos vigorosas durante a embebição apresentam menor velocidade de restabelecimento das membranas celulares e, conseqüentemente, maior liberação de solutos para o meio externo (MARCOS FILHO, 2015).

Em relação à qualidade genética das sementes, um método utilizado para determinação da diversidade genética das populações tem sido as técnicas moleculares por meio de iniciadores moleculares de Repetições de Sequência Simples Inter (ISSR), que permitem a identificação de uma ampla diversidade intra e interespecífica (LORENZONI et al., 2014). Outra vantagem, tem sido a facilidade de uso, pois apresenta baixo custo e são metodologicamente menos exigentes em comparação com outros iniciadores dominantes. Além disso, eles não necessitam conhecimento prévio das sequências alvo, sendo eficazes para estudos de diversidade genética (NG e TAN, 2015; GROVER e SHARMA, 2016; KUMAR e AGRAWAL, 2017; AL SALAMEEN et al., 2020; XIANG et al., 2020).

Todas essas técnicas e análises são cruciais para produzir mudas com excelente qualidade para um viveiro florestal e estabelecimento de plantios (ARAÚJO et al., 2018), além de ser essencial para definir protocolos e estratégias para ações de restauração, reflorestamento, resgate de germoplasma e estabelecimento da espécie, seja com finalidade comercial ou para conservação (CRUZ et al., 2016). Diante do exposto, *A. cearensis* possui potencial no Nordeste brasileiro, sendo importante para conservação do meio ambiente e para o desenvolvimento social e econômico da região.

Objetivo Geral

2. OBJETIVO GERAL

Definir critérios e selecionar árvores matrizes, baseados na diversidade genética dos indivíduos e na qualidade fisiológica das sementes, de modo a fornecer subsídios visando instalações de Áreas de Coleta de Sementes de *Amburana cearensis* para apoiar estratégias de conservação *in situ* e de produção de sementes desta espécie no bioma Caatinga.

Revisão de Literatura

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Descrição da espécie

Amburana cearensis (Allemão) A.C.Sm. (Fabaceae) é uma espécie florestal conhecida popularmente no Nordeste do Brasil, como cumaru, cumaru-das-caatingas, amburana, amburana-de-cheiro, imburana, imburana-de-cheiro e umburana cerejeira, (CAMPOS et al., 2013; GUEDES et al., 2013). Essa arbórea é nativa do bioma Caatinga (CAMPOS et al., 2013) e ocorre também nas florestas tropicais secas da Argentina, Estados Plurinacionais do Paraguai e no Peru (IUCN, 2021). As florestas tropicais secas se estendem desde a Caatinga brasileira para as áreas periféricas do domínio Chaco, atingindo os vales secos interandinos da Bolívia, Peru, Equador, noroeste do México, ao norte da Argentina (PRADO e GIBBS, 1993; LINARES-PALLOMINO et al., 2011).

A. cearensis é uma árvore silvestre, relativamente baixa, podendo variar de 4 a 10 m de altura na Caatinga, enquanto na mata pluvial, há descrições de que atinja 20 m (LORENZI, 2016). Apresenta casca vermelha a quase pardo, lisa, suberosa e fina, apenas com 7 mm de espessura, apresenta-se gordurosa e tem sabor amargo (LEAL, 1995; MAIA, 2012).

Em relação aos aspectos ecológicos, a sua floração ocorre no final do período chuvoso e logo após perder as suas flores, já no período seco, ocorre a frutificação. Possuem as abelhas como os principais polinizadores, sendo muito utilizada para a comercialização apícola (PAREYN et al., 2018). *A. cearensis* é classificada como espécie decídua, apresentando abscisão das folhas entre setembro e dezembro (estação seca) e a rebrota entre janeiro e agosto (estação chuvosa) na região, suas brotações apresentam cor verde-claro brilhante (JAPIASSÚ et al., 2016).

Quanto à reprodução sexuada, *A. cearensis* é uma planta hermafrodita e de acordo com KIILL (2010) as flores são reunidas em inflorescências e sistema de polinização misto, destacando-se como visitantes florais insetos da ordem *Lepitoptera* (borboletas e mariposas) e *Apis mellifera* (abelhas). A produção de frutos é naturalmente baixa e ocorre bianualmente, controlado por um provável sistema de autoincompatibilidade de ação tardia (BARRAL, 2019), sendo esta determinante para o sistema de polinização cruzada em plantas hermafroditas.

O fruto é uma vagem com comprimento de 7 a 9 mm, em forma de bilro de fazer renda, achatada, quase preta por fora, amarela e lisa por dentro, contendo uma semente (MAIA, 2012). Suas sementes são aladas, achatadas, brancas e com fortes manchas de cor marrom, de cheiro agradável e intenso, devido à presença de cumarina, possui características oleaginosas, sendo protegidas por uma vagem também alada, de coloração quase preta

quando madura (LEAL, 1995). A presença de alas no fruto e na semente indica que a dispersão é do tipo anemocórica.

A árvore apresenta crescimento lento e, normalmente, não atingem mais que 1,5 m em dois anos após o plantio (RAMOS et al., 2004).

3.2. Usos e potencialidades

A. cearensis possui potencial social, econômico e ecológico. Na medicina popular, a casca, as sementes e raiz são fitoterápicas sendo recomendadas para tratar doenças pulmonares, como tosse, asma, bronquite, gripe, coqueluche, sinusite e na cicatrização de feridas (MAIA, 2012). De acordo com estudos farmacológicos, essa espécie é rica em compostos como cumarinas, flavonóides e glicosídeos fenólicos (ALMEIDA et al., 2010).

As sementes são utilizadas comercialmente na perfumaria, como aromatizantes e repelentes de insetos para roupas e estantes (MENDES et al., 2019). Sua madeira tem sido intensivamente explorada para fabricação de portas, janelas na movelaria fina e na confecção de barris de madeira usados para fabricação de cachaça (MAIA, 2012; SOUZA et al., 2013).

Além dos potenciais citados, *A. cearensis* consegue habitar todos os tipos de solos, podendo ser recomendada para recuperação de áreas degradadas e reposição de mata ciliar (CUNHA e FERREIRA, 2005; MAIA, 2012). Entretanto, o valor econômico da espécie vem desencadeando seu uso indiscriminado na Caatinga pela exploração exaustiva da sua madeira (GUEDES et al., 2010), visto que não há normatização institucional para o seu manejo sustentável. Decorrente a isto, a espécie está na Lista Vermelha da flora brasileira desde 1998, e atualmente na classe de quase ameaçada (NT) (CNCFlora, 2021). Portanto, o conhecimento de estratégias de perpetuação desta espécie no bioma Caatinga é fundamental para fins de conservação.

3.3. Conservação *in situ*

Um dos principais desafios a nível mundial tem sido conciliar a exploração dos recursos ambientais com o desenvolvimento econômico, devido ao padrão de consumo capitalista da espécie humana baseado na intensa exploração dos recursos naturais. O Brasil é um dos países do mundo que detém a maior biodiversidade, mas este status pode estar sendo comprometido, devido às perdas pelo avanço do desmatamento decorrente do processo de urbanização e agropecuária, que provocam a conversão das paisagens naturais em florestas secundárias (PAZ et al., 2020).

A conservação de recursos genéticos é uma alternativa que tem por finalidade diminuir a perda contínua das espécies florestais decorrentes da degradação ambiental e

desmatamento (FAJARDO et al., 2018). Na implementação de estratégias para conservação dos recursos genéticos é imprescindível escolher qual o melhor método de conservação a ser utilizado, ou seja, *ex situ* ou *in situ*. Na conservação *ex situ*, a conservação de componentes da biodiversidade ocorre fora de seus ambientes naturais, devido às crescentes taxas de destruição de habitats e perda de espécies, envolvendo dessa forma a amostragem, transferência e armazenamento dos espécimes (SKINNER e MILWARD-DE-AZEVEDO, 2018) e a *in situ* sucede pela conservação dentro de seus ambientes naturais, onde há continuidade da evolução e adaptação ao ambiente (LIMA et al., 2019), garantindo a preservação do material genético e auxiliando na recuperação de áreas degradadas (CALGARO et al., 2015).

Diante disso, a conservação de espécies *ex situ* é a mais eficiente dentre as estratégias de conservação de bancos de germoplasma de plantas, entretanto, a conservação *in situ* prioriza a proteção do habitat, por permitir que as espécies continuem o seu processo de evolução e manutenção das relações intra e interespecíficas entre as populações, seus indivíduos e genes (NASCIMENTO et al., 2015)

No eixo da conservação *in situ* são apresentados trabalhos que ressaltam a importância da conservação dos ecossistemas e habitats, além da sua manutenção e recuperação. Um exemplo de importância de conservação do meio natural, pode ser encontrado em Fernandez e Gonzalez-Martinez (2009) no qual os autores relatam que espécies florestais devem ser conservadas preferencialmente de modo *in situ*, permitindo que ocorra a evolução natural. Sousa et. al. (2015) em seu estudo sobre fluxo gênico e estrutura genética espacial intrapopulacional e suas implicações para a coleta de sementes de espécies arbóreas tropicais, relatam que a conservação *in situ* permite a constituição de sementes de alta diversidade genética para uso em programas de reflorestamento. Além disso, a conservação *in situ* de espécies é o objetivo de longo prazo e, muitas vezes, a abordagem mais eficiente para preservar a diversidade genética de muitas espécies arbóreas (POTTER et al., 2017).

Portanto, para melhor eficiência de conservação das espécies os programas de recuperação de áreas degradadas e reflorestamento devem ser implantados com sementes ou mudas advindas de populações naturais ou coleções de germoplasma. (CANUTO et al., 2015).

3.4. Iniciadores moleculares ISSR para estudos de diversidade genética

Diversos métodos são utilizados na caracterização de recursos genéticos de plantas, entre eles estão avaliações de características moleculares, nos quais fornecem informações

importantes para conservação das espécies, sendo utilizadas normalmente nos estudos de variabilidade genética (PIRES et al., 2015; COSTA et al., 2016).

Os iniciadores moleculares desempenham papel importante no estudo e caracterização da variabilidade e diversidade genética, sendo os principais mecanismos de quantificação genética (SCHULMAN, 2007). São utilizados como ferramentas para detectar variações no genoma, viabilizando as análises genéticas das plantas (CAIXETA et al., 2009). Estes podem ser definidos como iniciadores genéticos baseados na detecção da isoenzimas ou sequências de DNA (FALEIRO, 2011). Dentre as classes de iniciadores moleculares existentes, os ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) podem ser utilizados na discriminação e na caracterização molecular de indivíduos e têm se mostrado eficientes em diversos estudos de análise da variabilidade genética (ROCHA et al., 2012). Esse tipo de iniciador permite a identificação de ampla variabilidade intra e interespecífica, sendo bastante útil em programas de melhoramento e estudos de diversidade (LORENZONI et al., 2014).

Os iniciadores moleculares podem ser usados em pesquisas que visem estabelecer estratégias de conservação de populações naturais, no manejo e melhoramento genético de espécies. Além disso, podem mensurar até que ponto os indivíduos e populações apresentam conectividade entre si, seja histórica ou contemporânea (MAHAJAN e GUPTA, 2012). O conhecimento acerca da variabilidade genética em populações naturais fornece informações para o desenvolvimento e inclusão das espécies estudadas em sistemas produtivos regionais e para a elaboração de programas de conservação *in situ* (COSTA et al., 2011).

3.5. Sistemas de produção de sementes

A produção e utilização de sementes com excelente qualidade, assim como todas as atividades comerciais nas áreas florestal e agrícola carecem de leis, normas, padrões de qualidade e fiscalização (SILVA e FIEDLER., 2014). De acordo com a Lei N° 10.711, de 5 de agosto de 2003, que dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes, são definidas as normas para produção, comercialização e utilização de sementes, oficializando o sistema de certificação em todo o território nacional e criando novas categorias de sementes, tendo por objetivo a oferta de sementes com alta qualidade (BRASIL,2003).

Posteriormente, o Decreto n° 5.153 de 23 de julho de 2004 foi revogado pelo Decreto N° 10.586, de 18 de dezembro de 2020 que regulamenta a Lei n° 10.711. Dessa forma, os diferentes tipos de sistema de produção de sementes são classificados em Área de Coleta de Sementes, Área de Produção de Sementes, Pomar de Sementes e Pomar de Sementes para Fins Ambientais definindo-os, por Brasil (2020), como:

- Área de Coleta de Sementes: área demarcada contendo apenas uma ou mais espécies florestais de interesse medicinal ou ambiental, natural ou plantada, onde são coletados material seminífero ou outro material de propagação;
- Área de Produção de Sementes: área selecionada, demarcada e que contém uma ou mais espécies florestais ou de interesse medicinal ou ambiental, natural ou plantada, isolada contra pólen externo, onde as árvores são selecionadas, havendo desbastes das matrizes indesejáveis e manejadas para a produção de sementes ou de outro material de propagação;
- Pomar de Sementes: plantação planejada, isoladas contra pólen de fontes externas, estabelecida com matrizes selecionadas com projeto de plantio e manejo adequado para a produção de sementes ou de outro material de propagação, onde tratamentos culturais específicos são aplicados.
- Pomar de Sementes para Fins Ambientais: plantação planejada, onde não há necessidade de isolamento contra pólen externo, com projeto de plantio e de manejo, estabelecida a partir de matrizes selecionadas e destinada à produção de sementes ou de outro material de propagação.

Compreende-se que a laboração de coletar sementes florestais de alta qualidade gera alto custo e demanda tempo de coleta em locais de difícil acesso. Diante disso, uma das finalidades de implantar um pomar de sementes para conservação têm sido manter amostras representativas de populações para fornecer material de qualidade para reflorestamentos de áreas, permitindo estabelecer populações com variabilidade genética e potencial evolutivo (SANT'ANA et al., 2017). Portanto, o estabelecimento de Áreas de Coletas de Sementes propõe fornecer subsídios para a instalação de Pomares de Sementes Florestais para Fins Ambientais com espécies da Caatinga.

3.6. Seleção de matrizes para produção de sementes

As atividades antrópicas são as principais causas que levam à degradação ambiental, e que conseqüentemente contribuem para perda da biodiversidade (LUCENA et al., 2017). Estima-se que 80% da vegetação da Caatinga tenha sido alterada devido às atividades causadoras de impactos negativos como mineração, mecanização, aplicação de defensivos agrícolas, pecuária extensiva, cerâmicas, e indústrias de óleos vegetais (LOPES, 2017).

Mediante esta situação é importante estudos que criem estratégias de regeneração e conservação da biodiversidade, visando obter informações sobre a origem das sementes, visto que, para cada população florestal, existem variações genéticas e fenotípicas. Portanto,

para esses estudos, as sementes devem ser coletadas de matrizes com características fenotípicas superiores às demais presentes na área de coleta (HOPPE et al., 2004).

Nesse sentido, a seleção de árvores matrizes com variabilidade genética é essencial quando se deseja sementes de alta qualidade, seja objetivando a conservação, regeneração, melhoramento ou a produção comercial de espécies florestais (FELIX et al., 2021). Após a seleção de matrizes, em laboratório segue-se o controle da qualidade de sementes nas etapas de coleta e beneficiamento (LIMA et al., 2014). Portanto, é necessário que esses estudos atendam às leis estabelecidas e qualidade exigidos pelos projetos de conservação e produção de espécies florestais (FELIX et al., 2021).

3.6.1. Qualidade de sementes

A semente é o principal meio de multiplicação das espécies arbóreas e, por isso, o conhecimento sobre produção e tecnologia de sementes florestais assume importância fundamental no processo de manejo, conservação e melhoramento genético dessas espécies (ROVERI-NETO e PAULA, 2017).

A qualidade das sementes reúne vários atributos sejam eles genéticos, sanitários, fisiológicos e físicos que indicam seu potencial desejado durante processos de armazenamento e em condições de campo (MARCOS-FILHO, 2015). Conforme aumenta a demanda por sementes de espécies florestais nativas de alta qualidade para trabalhos de reflorestamento, é fundamental que os métodos de avaliação dessa qualidade sejam eficientes nesse aspecto. Para isso, esses métodos precisam ser adaptados e aprimorados, principalmente para espécies nativas, que apresentam ampla variação morfológica e estruturais dos frutos e sementes (SABONARO et al., 2017).

No entanto, grande parte das sementes florestais comercializadas ainda é de baixa qualidade (NORONHA et al., 2018). No Brasil, o mercado de sementes de espécies florestais nativas é essencialmente informal (RIBEIRO-OLIVEIRA e RANAL, 2014). Desse modo, avaliações rápidas de lotes de sementes são fundamentais para avaliar a qualidade das sementes imediatamente antes do plantio, de acordo com padrões pré-estabelecidos (MASULLO et al., 2017).

A avaliação da qualidade de sementes é feita por meio dos testes de vigor e de viabilidade, permitindo identificar o desempenho efetivo de lotes de sementes em condições adversas de campo ou até mesmo durante o armazenamento (MARCOS-FILHO, 2015). Dentre as análises usuais, a qualidade física é essencial, sendo avaliada por meio de determinações como o grau de umidade, peso de mil sementes, número de sementes por quilograma e caracterização biométrica (LIMA et al., 2014).

Grande parte dos experimentos para a determinação da qualidade fisiológica de lotes de sementes florestais foi desenvolvida a partir de testes utilizados para sementes de espécies agrícolas, domesticadas e melhoradas geneticamente. Nesse caso, considerando a variabilidade existente entre as sementes florestais, geralmente é observado uma notável variação nos resultados, exigindo adaptação de metodologias e prudência na interpretação das informações obtidas (SABONARO et al., 2017). Essas análises também podem ser usadas em estudos para determinar a variabilidade genética e a diferenciação da qualidade de sementes produzidas por diferentes árvores matrizes (ROVERI-NETO e PAULA, 2017).

Literatura Citada

LITERATURA CITADA

AL SALAMEEN, F.; HABIBI, N.; AL AMAD, S.; KUMAR, V.; DASHTI, J.; TALEBI, L.; AL DOAIJ, B. Genetic diversity analysis of *Rhanterium eppaposum* Oliv. by ISSRs reveals a weak population structure. **Current Plant Biology**. v.21, n. 1001382, p.100-138, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2020.100138>.

ALMEIDA, J.R.G.D.S.; GUIMARÃES, A.G.; QUINTANS, J.D.S.S.; SANTOS, M.R.V.D.; LIMA, J.T.D.; NUNES, X.P.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J. *Amburana cearensis* – uma revisão química e farmacológica. **Scientia Plena**, v.6, n.11, p.1-8 2010. Disponível: <https://www.scientiaplena.org.br/sp/article/view/106/65>.

ARAÚJO, M.M.; NAVROSKI, M.C.; SCHORN, L.A. **Produção de sementes e mudas: um enfoque à silvicultura**. 1 ed. Santa Maria: Editora: UFSM, 2018.

BARRAL, E.C. **Biologia reprodutiva, ecologia de populações e filogeografia de *Amburana cearensis*, leguminosae ameaçada de extinção**, Brasil. Tese (Doutorado - Biologia Vegetal) - Universidade Federal de Pernambuco, PE, 2019. 129 f. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/33314>.

BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K.; HILHORST, H.M.H.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. 3. Ed. New York: Springer Verlag, 2013. 376 p.

BRASIL. Decreto Nº 10.586, de 18 de dezembro de 2020. **Regulamentação da Lei nº 10.711, de 5 de agosto de 2003, que dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudanças**. Diário oficial da República Federativa do Brasil, p. 1-35. 2020.

BRASIL. Lei nº 10.711, de 05 de agosto de 2003. **Dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudanças**. Diário Oficial da União, Brasília, 06 de agosto de 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais**. Secretaria de Defesa Agropecuária, 2013.

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

CAIXETA, E.T.; BRITO, E. T.; SAKIYAMA, N. S.; OLIVEIRA, A. C. B. **Tipos de Marcadores Moleculares**. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E.T (Org.). Marcadores Mol. 2. ed. Viçosa-MG: Editora Jard, 2009. p. 11–101.

CALGARO, H.F.; BUZETTI, S.; SILVA, L.R.; STEFANINI, L.; MIRANDA, L.P.M.D.; MORAES, M.A.D.; MORAES, M.L.T.D. Distribuição natural de espécies arbóreas em áreas com diferentes níveis de antropização e relação com os atributos químicos do solo. **Revista Árvore**, v.39, n.2, p.233-243, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-67622015000200003>.

CAMPOS, V.C.A.; BRITO, A.L.; GUTIERREZ, I.E.M.; SANTANA, J.R.F.; SOUZA, A.V.V. Micropropagação de umburana de cheiro. **Ciência Rural**, v.43, n.4, p.639-644, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782013005000018>.

CANUTO, D.S.D.O.; ZARUMA, D.U.G.; MORAES, M.A.D.; SILVA, A.M.D.; MORAES, M.L.T.D.; FREITAS, M.L.M. Caracterização genética de um teste de progênies de *Dipteryx alata* Vog. proveniente de remanescente florestal da Estação Ecológica de Paulo de Faria, SP, Brasil. *Hoehnea*, v.42, n.4, p.641-648, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2236-8906-13/RAD/2015>.

CNCFlora - Centro Nacional de Conservação da Flora. **Amburana cearensis in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2**. Disponível em: [http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Amburana cearenses](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Amburana%20cearensis). Acesso em 27 fev. de 2021.

COSTA, M.F.; LOPES, A.C.A.; GOMES, R.L.F.; ARAÚJO, A.S.F.; ZUCCHI, M.I.; PINHEIRO, J.B.; VALENTE, S.E.S. Caracterização e divergência genética de populações de *Casearia grandiflora* no cerrado Piauiense. **Floresta e Ambiente**, v.23, n.3, p.387-396, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2179-8087.007115>.

COSTA, T.S.; SILVA, A.V.C.; LÉDO, A.S.; SANTOS, A.R.F.; SILVA JÚNIOR, J.F.S. Diversidade genética de acessos do banco de germoplasma de mangaba em Sergipe. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, v.46, n.5, p.499-508, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011000500007>.

CRUZ, F.R.S.; ANDRADE, L.A.; FEITOSA, R.C. Produção de mudas de umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara) em diferentes substratos e tamanho de recipientes. **Ciência Florestal**, 26, n.1, p.69-80, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/1980509821092>.

CUNHA, A.O.; ANDRADE, A.A.; BRUNO, L.A.; SILVA J.A.L.; SOUZA, V.C. Efeitos de substratos e das dimensões dos recipientes na qualidade das mudas de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex D.C.) Standl. **Revista Árvore**, Viçosa, v.29, n.4, p.507-516, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-67622005000400002>.

FAJARDO, C.G.; COSTA, D.F.D.; CHAGAS, K.P.T.D.; VIEIRA, F.D.A. Genetic diversity in natural populations of *Hancornia speciosa* Gomes: Implications for conservation of genetic resources. **Ciência e Agrotecnologia**, v.42, n.6, p.623-630, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1413-70542018426019018>.

FALEIRO, F.G.; ANDRADE, S.R.M.; JÚNIOR, F.B.R. Biotecnologia Estado da Arte e Aplicações na Agropecuária. In: FALEIRO, F. G. **Princípio científico e análises genéticas utilizando marcadores moleculares 2**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p.31-49. 2011.

FELIX, F.C.; MEDEIROS, J.A.D.; FERRARI, C.S.; CHAGAS, K.P.T.; CASTRO, M.LL.; SOUZA, W.M.A.T.; VIEIRA, F.A.; PACHECO, M.V. Selection of *Pityrocarpa moniliformis* (Benth.) Luckow & RW Jobson mother trees for seeds production. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.16, n.2, p.1-10, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.5039/agraria.v16i2a8429>.

FELIX, F.C.; CHAGAS, K.P.T.D.; FERRARI, C.S.; VIEIRA, F.A.; PACHECO, M.V. Applications of ISSR markers in studies of genetic diversity of *Pityrocarpa moniliformis*. **Revista Caatinga**, v.33, n.4, p.1017-1024, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n417rc>.

FERNANDEZ, J.; GONZALEZ-MARTINEZ, E.S.C. Allocating individuals to avoid inbreeding in *ex situ* conservation plantations: so far, so good. **Conservation Genetics**, v. 10, n. 1, p. 45-57, 2009.

GROVER, A.; SHARMA, P.C. Development and use of molecular markers: past and present. **Critical Reviews in Biotechnology**. v. 36, n. 2, p. 290-302, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.959891>.

GUEDES, R.S.; ALVES, E.U.; COSTA, E.M.T.; MOURA, S.S.S.; SILVA, R.S.; CRUZ, F.R.S. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 4, p. 859-866, 2013. Disponível em: <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/13994>.

GUEDES, R.S.; ALVES, E.U.; GONÇALVES, E.P.; VIANA, J.S.; MOURA, M.F.; COSTA, E. G. Emergência e vigor de plântulas de *Amburana cearensis* (Allemão) AC Smith em função da posição e da profundidade de semeadura. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 843-850, 2010. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445744098004>.

HOPPE, J.M.; GENRO, C.J.M.; VARGAS, C.O.; FLORIANO, E.P.; REIS, E.R.; FORTES, F.O.; MÜLLER, I.; FARIAS, J.A.; CALEGARI, L.; COSTA, L.P.E. Produção de sementes e mudas florestais. **Caderno didático**, v. 1, n. 2, p. 388, 2004.

IUCN - International Union for Conservation of Nature. ***Amburana cearensis* - RED LIST 2021**. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.1998.RLTS.T32291A9687595.en>. Acesso em: 29 de jul. de 2021.

JAPIASSÚ, A.; LOPES, K.P.; DANTAS, J.G.; NÓBREGA, J.S. Fenologia de quatro espécies arbóreas da Caatinga no Semiárido paraibano Phenology of four arboreal species of the Caatinga in semiarid of Paraíba. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 4, p. 34-43, 2016. Disponível: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7280961>.

KIILL, L.H.P. Plantas da Caatinga ameaçadas de extinção e sua associação com polinizadores. Congresso (ALICE). 2 Semana dos polinizadores. **Anais**. Petrolina: Embrapa Semiárido. v. 1, p. 59-71, 2010. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/865240>.

KUMAR, J.; AGRAWAL, V. Analysis of genetic diversity and population genetic structure in *Simarouba glauca*, DC. (an important bio-energy crop) employing ISSR and SRAP markers. **Industrial Crops and Products**, v. 100, p. 198-207, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.02.035>.

LEAL, L.K.A.M. **Estudos farmacológicos do extrato hidroalcoólico e constituintes químicos de *Torresea cearensis* Fr. All. (Cumaru)**. 1995. 128 p. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – UFC, Fortaleza, 1995.

LIMA, C.R.; BRUNO, R.L.A.; SILVA, K.R.G.S.; PACHECO, M.V.; ALVES, E.U. Qualidade fisiológica de sementes de diferentes árvores matrizes de *Poincianella pyramidalis*

(Tul.) L. P. Queiroz. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 2, p. 370-378, 2014. Disponível em: <http://ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/2983/950>.

LIMA, L.F.; SOUZA, D.C.; RESENDE, L.V.; GONÇALVES, W.M. Manejo de recursos genéticos 29 vegetais. **Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v.15, n.1, p.109-126, 2019. 30 Disponível em: <http://journals.ufrpe.br/index.php/apca/article/view/1824>.

LINARES-PALOMINO, R.; OLIVEIRA-FILHO, A. T.; PENNINGTON, R. T. **Neotropical seasonally dry forests: diversity, endemism and biogeography of woody plants**. In: DIRZO, R.; YOUNG, H. S.; MOONEY, H. A.; CEBALLOS, G. (Ed.). *Seasonally dry tropical forests: ecology and conservation*. Washington: Island, 2011. p. 3-21.

LOPES I.A.P. **Avaliação de estratégia de enriquecimento com *Cereus jamacaru* Dc. introduzido por propagação vegetativa em área de clareira no semiárido paraibano**. Monografia. Universidade Federal de Campina Grande, Sumé. 2017, 39 f.

LOPES, I.S.; NÓBREGA, A.M.F.; MATOS, V.P. Maturação e colheita da semente de *Amburana cearensis* (Allem.) A.C. Smith. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 3, p. 565-572, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1980-509820142403005>.

LORENZI, H. **Arvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 7. ed., v.1. Nova odessa, Editora Plantarum, 2016.

LORENZONI, R.M.; SOARES, T.C.B.; SANTIAGO, V.F.; SILVA, J.A.; COELHO, R.I. Using ISSR for fingerprinting accessions of biribazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. Special Issue, p. 251-257, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452014000500029>.

LUCENA, E.O.; NÓBREGA LÚCIO, A.M.F.; BAKKE, I.A.; PIMENTA, M.A.C.; RAMOS, T. M. Biometria e qualidade fisiológica de sementes de juazeiro (*Ziziphus Joazeiro* Marth.) de diferentes matrizes do semiárido paraibano. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 13, n. 4, p. 275-280, 2017. Disponível em: <http://revistas.ufcg.edu.br/acsa/index.php/ACSA/index>.

MAHAJAN, R.; GUPTA, P. Molecular markers: their use in tree improvement. **Journal of Forest Science**, v. 58, n. 3, p. 137–144, 2012. Disponível em: DOI: 10.17221 / 5579-JFS.

MAIA, G.N. **Caatinga**: árvores e arbustos e suas utilidades. 2. ed. Fortaleza: Printcolor Gráfica e Editora, 2012. 413 p.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2.ed. Londrina: ABRATES, 2015. 660p.

MASULLO, L.S.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. Optimization of tetrazolium tests to assess the quality of *Platymiscium floribundum*, *Lonchocarpus muehlbergianus* and *Acacia polyphylla* DC. Seeds. **Journal of Seed Science**, v. 39, n. 2, p. 189-197, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2317-1545v39n2167534>.

MENDES, R.G.; GASTL- FILHO, J.; FIALHO, A.; MENEZES, D.P.; SILVA, A.P.S.; JACOB, M. A.M. Influência do ácido acetilsalicílico na emergência e na indução à resistência ao déficit hídrico em *Amburana Cearensis*. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 2, n. 1, p. 655-663, 2019. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJAER/article/view/1451>.

NASCIMENTO, J.P.B.; VIEIRA, D.C.M.; MEIADO, M.V. *Ex situ* seed conservation of Brazilian Cacti. **Revista Gaia Scientia**, v. 9, n. 2, p. 111-116, 2015. Disponível em: <https://periodicos.ufpb.br/ojs2/index.php/gaia/article/view/24566/13416>

NG, W.L.; TAN, S.G. Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers: are we doing it right. **ASM Sci J**, v. 9, n. 1, p. 30-39, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/283256624_InterSimple_Sequence_Repeat_ISSR_markers_Are_we_doing_it_right.

NORONHA, B.G.; MEDEIROS, A.D.; PEREIRA, M.D. Avaliação da Qualidade Fisiológica de Sementes de *Moringa oleifera* Lam. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 1, p. 393-402, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5902/1980509831615>.

OLIVEIRA, M.T.A.; DE ALENCAR, M.V.O.B.; ANJOS LANDIM, V.D.P.; MOURA, G. M. M.; CRUZ, J.I.O.; SANTOS, E.A.; COUTINHO, H.D.M.; ANDRADE, J.C.; MENEZES I.R.A.; RIBEIRO, P.R.V.; BRITO, E.S.; SOUSA, E.O.; UCHOA, A.F. UPLC–MS–QTOF analysis and antifungal activity of cumaru (*Amburana cearensis*). **Biotech**, v. 10, n. 12, p. 1-17, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02551-4>.

PAREYN, F.G.C.; ARAÚJO, E.L.; DRUMOND, M. A.; MIRANDA, J.A.C.; SOUZA, C.A.; SILVA, A.P.S.; BRAZOLIN, S.; SILVA, A.P.S.; MARQUES, K.K.M. **Livro Nordeste: *Amburana cearensis*: amburana-de-cheiro**. Brasília: Embrapa Semiárido - Capítulo em Livro Técnico (infoteca-e), 2018. Cap.5, p.732-739.

PAZ, R.J.D.; PAZ, M.C.P.D.; LINS FILHO, J.A.; LUCENA, R.F.P.D. Unidades de conservação na região semiárida do Brasil. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade**, v. 7, n. 17, p. 1283-1334, 2020. DOI: 10.21438/rbgas(2020)071718.

PIRES, M.V.V.; FALEIRO, F.G.; SILVA, J.C.S.; MELO, J.T.; PEIXOTO, J.R. Características morfológicas e variabilidade genética de araticum utilizando marcadores RAPD e microssatélites. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 1, p. 149- 158, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-2945-075/14>.

POPOVIĆ, V.; LUČIĆ, A. Preview of the activities related to in situ conservation of forest genetic resources in Serbia. In: **Forests of Southeast Europe Under a Changing Climate**. Springer, Cham, 2019. p.157-163.

POTTER, K.M, JETTON, R.M, BOWER A.; JACOBS, D.F.; MAN,G.; HIPKINS, V.D.; WESTWOOD, M. Banking on the future: progress, challenges and opportunities for the genetic conservation of forest trees. **New Forests**, v. 48, p. 153-180, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11056-017-9582-8>.

PRADO, D. E.; GIBBS, P. E. Patterns of species distributions in the dry seasonal forest of South America. **Annual of the Missouri Botanical Garden, Saint Louis**, v. 80, p. 902-927, 1993.

RAMOS, K.M.O.; MATOS, J.M.; MARTINS, R.C.; MARTINS, I.S. Electrical conductivity testing as applied to the assessment of freshly collected *Kielmeyera coriacea* Mart. seeds. **International Scholarly Research Notices**, v. 2012, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.5402/2012/378139>.

RAMOS, K.M.O.; FELFILI, J.M.; FAGG, C.W.; SILVA, J.C.S.; FRANCO, A.C. Desenvolvimento inicial e repartição de biomassa de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith, em diferentes condições de sombreamento. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 2, p. 351-358, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062004000200014>.

RIBEIRO-OLIVEIRA, J.P.; RANAL, M.A. Sementes florestais brasileiras: início precário, presente inebriante e o futuro, promissor? **Ciência Florestal**, v. 24, n. 3, p. 771-784, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1980-509820142403024>.

ROCHA, A.; SALOMÃO, L.F.C.; SALOMÃO, T. M. F.; CRUZ, C. D.; SIQUEIRA, D. L. Genetic diversity of “Ubá” mango tree using ISSR markers. **Molecular Biotechnology**, v. 50, n. 2, p. 108–113, 2012.

ROVERI-NETO, A.; PAULA, R. C. Variability among mother trees of *Ceiba speciosa* St. Hil for characteristics of the fruits and seeds. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 48, n. 2, p.318-327, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170037>.

SABONARO, D.Z.; PRUDENTE, C.; BARBEDO, C.J. Estruturas do fruto de aroeira na qualidade de sementes através do teste de condutividade elétrica. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 9, n. 1, p. 86-97, 2017. Disponível em: <http://www.periodicoseletronicos.ufma.br/index.php/ccaatropica/article/view/2144>.

SANT’ANA, V.Z. **Proporção sexual em populações de *Myracrodruon Urundeuva* para fins de formação de Pomares de Sementes por Mudas**. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 64 p. 2017.

SCHULMAN, A.H. Molecular markers to assess genetic diversity. **Euphytica**, v. 158, n. 3, p. 313- 321, 2007. Disponível em: DOI 10.1007/s10681-006-9282-5.

SILVA, E.N.; FIEDLER, N.C.; PEREIRA, D.P.; PAULA, M.O. **Florestas de produção**. Viçosa: Suprema, 2014, p.296.

SKINNER, L.F.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A. Conservação *in situ* e *ex situ* da biodiversidade brasileira. **Diversidade e Gestão**, v. 2, n. 2, p. 47-51., 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Luis-Skinner/publication/331473027_CONSERVACAO_IN_SITU_E_EX_SITU_DA_BIODIVERSIDADE_BRASILEIRA/links/5c7ab9e092851c69504ee8b7/CONSERVACAO-IN-SITU-E-EX-SITU-DA-BIODIVERSIDADE-BRASILEIRA.pdf.

SOUSA, V.A.; AGUIAR, A.V.; MOURA, N.F.; MORAES, M.A.; MORAES, M.L.T.; SEBBENN, 27 A.M. Fluxo gênico e estrutura genética espacial intrapopulacional e suas implicações para

a coleta de sementes de espécies arbóreas tropicais. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.; FIGLIOLIA, M.B.; SILVA, A. (org.). **Sementes Florestais Tropicais**: da ecologia à produção. Londrina. ABRATES, 2015.

SOUZA, L.D.S.; AZEVEDO, D.D.O.; CARVALHO, A.J.A.; SIMÕES, W.L.; VOLTOLINI, T.V. Qualidade nutricional de plantas forrageiras de ocorrência natural na Caatinga. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, p. 178, 2013. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/975828/qualidade-nutricional-de-plantas-forrageiras-de-ocorrencia-natural-na-caatinga>.

XIANG, L.; LI, X.L.; WANG, X.S.; YANG, J.; LV, K.; XIONG, Z.Q.; CHEN, F.Q.; HUANGD, C.M. Genetic diversity and population structure of *Distylium chinense* revealed by ISSR and SRAP analysis in the three gorges reservoir region of the Yangtze River, China. **Global Ecology and Conservation**, v.21, p.e00805, 2020.

Capítulo 1

4. CAPÍTULO 1

SELEÇÃO DE ÁRVORES DE *Amburana cearensis* (ALLEMÃO) A.C.SM PARA PRODUÇÃO DE SEMENTES

Seleção de árvores de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C.SM para produção de sementes

Resumo

Conhecer a diversidade genética e avaliar a qualidade de sementes produzidas a partir de populações naturais fornecem informações substanciais para seleção de árvores com características produtivas superiores para a conservação das espécies. Dessa forma, objetivou-se com o presente estudo selecionar árvores matrizes de *A. cearensis*, atendendo a requisitos de diversidade genética, qualidade física e fisiológica exigidos em programas de conservação para produção de sementes. Para isso, 17 árvores foram submetidas às análises física e fisiológica das sementes, bem como da diversidade genética das árvores matrizes usando iniciadores moleculares ISSR. Considerando os aspectos de vigor e viabilidade bem como a diversidade genética (distância genética de Nei $< 0,82$) foi possível eleger como indivíduos produtores de sementes de alta qualidade fisiológica aqueles que apresentaram valores para emergência (vigor) de $58 \geq 89\%$ e pH de exsudato individual (viabilidade) $82 \geq 100\%$. Apenas 29% dos indivíduos atendem a requisitos de diversidade genética e qualidade física e fisiológica como árvores matrizes com vistas à produção de sementes e conservação da espécie.

Palavras-chave: sementes florestais, germinação, conservação *in situ*, árvores matrizes, semiárido

Selection of *Amburana cearensis* (Allemão) A.C.SM trees for seed production

Abstract

Knowing the genetic diversity and evaluating the quality of seeds produced from natural populations provide substantial information for selecting trees with superior productive characteristics for species conservation. Thus, the objective of this study was to select matrix trees of *A. cearensis*, meeting the requirements of genetic diversity, physical and physiological quality required in conservation programs for seed production. For this, 17 trees were submitted to physical and physiological analysis of seeds, as well as genetic diversity of parent trees using ISSR molecular primers. Considering the aspects of vigor and viability as well as the genetic diversity (genetic distance of Nei < 0.82), it was possible to choose as individuals producing

seeds of high physiological quality those that presented values for emergence (vigor) of $58 \geq 89\%$ and pH of individual exudate (viability) $82 \geq 100\%$. Only 29% of individuals meet the requirements of genetic diversity and physical and physiological quality as parent trees with a view to seed production and conservation of the species.

Key words: forest seeds, germination, *in situ* conservation, matrix trees, semiarid

INTRODUÇÃO

Amburana cearensis (Allemão) A.C.SM. (Fabaceae) é uma espécie nativa do semiárido do Nordeste do Brasil, conhecida popularmente como cumaru ou amburana-de-cheiro. Os diversos produtos comercializáveis madeireiros e não madeireiros a partir desta espécie vêm do extrativismo predatório (PAREYN et al., 2018), o que corroborou para que fosse incluída na Lista Vermelha na categoria EN - ameaçada (IUCN, 2021). Sendo assim, são necessárias intervenções imediatas para conservação das populações nativas remanescentes na Caatinga.

A exploração predatória e indiscriminada de espécies florestais nativas tem sido um dos principais fatores que contribui para o aumento de áreas degradadas e redução da biodiversidade. Por isso, selecionar árvores matrizes com base na diversidade genética visando a produção de sementes com alta qualidade fisiológica é fundamental para a conservação, reflorestamento, melhoramento e plantio comercial da espécie (FELIX et al., 2021).

Estudos sobre qualidade fisiológica de sementes oferecem subsídios para conservação e exploração das espécies, pois podem oferecer uma base para a análise da variabilidade genética (LARA-FIOREZE et al., 2013), contribuindo em programas de melhoramento genético para obtenção de sementes florestais de características produtivas superiores, uma vez que esta assume papel fundamental para avaliar e diferenciar lotes de sementes de espécies florestais (OLIVEIRA et al., 2018).

A qualidade fisiológica das sementes pode ser analisada por dois parâmetros fundamentais: a viabilidade e o vigor. A viabilidade estima a capacidade que a semente tem ou não de germinar, ou seja, apresenta-se viva ou morta (NAKAGAWA, 1999). Dentre os testes que avaliam a viabilidade, tem-se o pH do exsudato e o teste de germinabilidade. O primeiro teste é um método eficaz, rápido, de baixo custo e que já vem sendo utilizado para cultivares (THEODORO et al., 2018; SANTOS et al., 2020), sendo também aplicado espécies florestais, como a *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze (ARALDI & COELHO, 2015), *Anadenanthera peregrina* var. *falcata* (Benth.) Altschul (STALLBAUN et al., 2015), *Libidibia ferrea* (Mart. ex

Tul.) L. P. Queiroz var. *férrea* (SOUTO et al., 2019), *Peltogyne confertiflora* (Mart. Ex Hayne) Benth. (FERREIRA et al., 2020). Já o teste de germinabilidade representa a porcentagem de sementes germinadas em relação ao número de sementes dispostas a germinar sob determinadas condições ambientais (LABOURIAU, 1983).

Os testes de vigor avaliam um somatório de propriedades intrínsecas à semente e podem ser determinados sob condições adversas de campo (MEDEIROS et al., 2020). Além disso, o vigor depende de vários fatores que levam em consideração a genética e condições de produção das sementes (OLIVEIRA et al., 2018).

Entretanto, quando se deseja produzir mudas de alta qualidade, além da avaliação da qualidade fisiológica das sementes, é necessário levar em consideração a diversidade genética existente. Desta forma, o uso de iniciadores moleculares é uma ferramenta importante para conservação e melhoramento florestal. A seleção desses iniciadores possibilita a caracterização genética populacional e subsidia estratégias de conservação genética (CHAGAS et al., 2015).

Dentre os iniciadores moleculares baseados em Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), para estudos de variabilidade genética entre indivíduos e populações, tem-se o ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) que é uma técnica mais acessível comparada a outros iniciadores, por apresentar baixo custo e não necessitar de conhecimento prévio do genoma da espécie alvo, gerando elevado número de *loci* polimórficos e alta reprodutibilidade (SANTOS et al., 2011; NG & TAN, 2015; ADHIKARI et al., 2017).

Assim, selecionar árvores com base na qualidade fisiológica das sementes e na qualidade genética e dos indivíduos é importante para a produção de sementes de alta qualidade (ARAÚJO et al., 2018), o que contribui para o desenvolvimento de uma floresta duradoura, diminui a possibilidade de desastres ambientais e favorece a manutenção do “pool” gênico local (BIERNASKI et al., 2012). Portanto, devido à importância e à necessidade de conservação da espécie, este estudo tem por objetivo selecionar árvores matrizes de *A. cearensis*, atendendo a requisitos de diversidade genética e qualidade física e fisiológica exigidos em programas de conservação para produção de sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização da população de *A. cearensis*

A população de *A. cearensis* escolhida para o estudo está localizada em uma área de vegetação nativa (Caatinga) de uma propriedade rural particular, do município de Soledade, Estado da Paraíba, Brasil (36° 18' 25,8”S e 7° 09' 40,8” O). O clima da região é quente e seco,

classificado como semiárido BS'h, (precipitação pluvial média de 500 mm.ano⁻¹; temperaturas máxima de 31 °C e mínima de 16,7 °C; e umidade relativa do ar em torno de 65%) (Köppen, 1948). Os solos são rasos, com relevo relativamente liso a levemente ondulado e estrutura geológica cristalina (LIMA et al. 2018).

Os dados de localização das árvores foram cadastrados no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) (número de cadastro: A5DB85E). Foram amostrados 27 indivíduos adultos, com boas condições de sanidade, livres de patógenos e copa frondosa, com distância mínima entre indivíduos equivalente a duas vezes a altura da árvore, conforme critérios descritos por Sebbenn (2002).

A localização e a marcação das árvores seguiram os critérios estabelecidos pelo Sistema Nacional de Sementes e Mudanças Florestais (Lei nº 10.711/2003) regulamentada pelo Decreto nº 10.586, de 18 de dezembro de 2020. Os indivíduos foram identificados e georreferenciados (Sistema de Posicionamento Global). Para caracterização básica dos indivíduos mensurou-se a altura total (H) estimando por medida direta, diâmetro na altura do peito (DAP) e diâmetro na altura do solo (DAS) com auxílio de fita métrica.

Obtenção de lotes de sementes

Os frutos de cada indivíduo foram coletados manualmente em outubro de 2019. Concomitantemente à coleta manual, também foi utilizado um coletor de frutas adaptado com uma malha na cesta coletora, acoplado com uma haste extensora para alcançar os frutos nos ramos mais altos da copa.

Figura 1. Fruto maduro e seco, do tipo vagem, com abertura deisciente e dispersão anemocórica.



Fonte: Pacheco, M.P. (2019).

Os frutos foram embalados por indivíduo, em sacos de polietileno previamente identificados e encaminhados ao Laboratório de Sementes Florestais da Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias (UAECIA), Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Macaíba, Rio Grande do Norte, Brasil, onde foram distribuídos em bandejas plásticas em ambiente de laboratório (temperatura de 20°C e 44% de umidade relativa do ar) durante 14 dias, seguido de beneficiamento manual das sementes. Após, realizou-se a avaliação da qualidade física e fisiológica das sementes.

Qualidade física e fisiológica de sementes de *A. cearensis*

A qualidade física e fisiológica das sementes de cada árvore (lote) foi avaliada por meio das seguintes determinações e testes:

a) Grau de Umidade (GU): determinado pelo método da estufa, com secagem a 105 ± 3 °C durante 24 h (BRASIL, 2009), utilizando-se duas subamostras de $4,5 \pm 0,5$ g de sementes;

b) Germinabilidade (G): realizada a partir de cinco repetições de 20 semente, desinfestadas em solução detergente contendo 5 gotas para cada 100 mL de água por 5 min, seguido de enxágue com água destilada (BRASIL, 2013). Posteriormente, as sementes foram distribuídas em papel para germinação, umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco (BRASIL, 2013). Por fim, os papéis foram organizados em sistemas de rolo, dispostos em sacos plásticos e incubados em câmaras de germinação reguladas à 30°C e fotoperíodo de 12h. Aos 30 dias após a semeadura (BRASIL, 2013), contabilizou-se o número total de sementes com protrusão da raiz primária com comprimento igual ou superior a 1,0 cm, cujos resultados foram expressos em porcentagem.

c) Emergência (E): a semeadura foi realizada a 1,0 cm de profundidade em canteiro com substrato areia + terra de subsolo + composto orgânico (proporção volumétrica 1:1:1), a pleno sol, o qual foi mantido umedecido com regas diárias. Avaliou-se o número total de plântulas emersas no 30° dia após a semeadura, quando houve a estabilização da emergência, cujos resultados foram expressos em porcentagem.

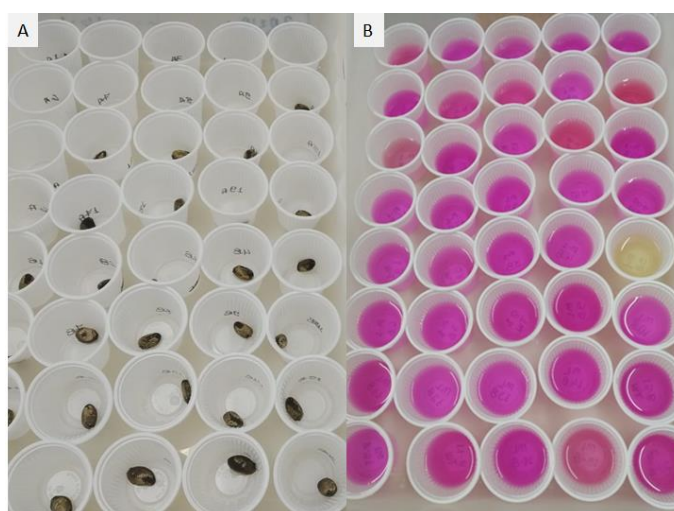
d) Índice de velocidade de emergência (IVE): realizado conjuntamente ao teste de emergência, computando-se diariamente o número de plântulas emersas (Maguire, 1962);

e) Condutividade elétrica (método individual): para a realização do teste de condutividade elétrica foi adotado o método individual totalizando 100 sementes para cada lote. Cada semente foi depositada em recipientes plásticos com capacidade volumétrica de 50 mL, nos quais foram adicionados 20 mL de água destilada, por 24 h e encaminhadas para câmara de germinação sob a mesma temperatura (30 °C) recomendada por Guedes (2012) para o teste de condutividade

elétrica (método massal) da espécie. Após esse período de embebição da semente, fez-se a leitura da água por meio de condutivímetro de bancada (Tecnal® - TEC-4MP) e o cálculo de condutividade elétrica foi feita pela subtração das leituras da amostra (água onde a semente foi embebida) e da água deionizada (prova em branco: água sem imersão da semente) ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) dividida pela massa (g) da semente de cada amostra, cujos resultados foram expressos em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de semente.

f) pH do exsudato individual pelo método calorimétrico: para o teste de pH de exsudato qualitativo aproveitou-se a mesma solução obtida nos recipientes após o teste de condutividade elétrica. Assim, aos 20 mL de água da solução obtida no teste de condutividade elétrica, foram acrescentadas 2 gotas de cada solução indicadora (fenolftaleína; e carbonato de sódio) do teste de pH do exsudado, conforme proposto Cabrera e Peske (2002). Na formulação da solução indicadora de fenolftaleína foi usado 1 g de fenolftaleína dissolvida em 100 mL de álcool absoluto e a adição de 100 mL de água destilada e fervida. Já a solução indicadora de carbonato de sódio foi obtida a partir de 8,5 g diluídos em 1 L de água destilada e fervida. Após a aplicação das soluções indicadoras na água da solução do teste de condutividade elétrica, lê-se o resultado da seguinte forma: soluções de embebição incolores são indicadas como ácidas e, com isso, as sementes são consideradas inviáveis, exibindo pH inferior a 5,8; à medida em que as soluções apresentarem coloração rosa determinam um meio básico, ou seja, as sementes encontram-se viáveis atingindo pH próximo a 8,3 (MARCOS FILHO, 2015). Após, foi contabilizado o número de sementes, cujas soluções de embebição coloriram de rosa, sendo os resultados expressos em porcentagem de sementes viáveis (Figura 2).

Figura 2. Sementes de *A. cearensis* separadas do meio líquido (A) para adição da solução indicadora no teste de pH do exsudato (B).



Fonte: Autores (2019).

Diversidade Genética

As amostras de tecido foliar (folhas jovens) coletadas dos 27 indivíduos foram acondicionadas em tubos eppendorfs de 2 mL contendo CTAB 2X (brometo de cetiltrimetilamônio), identificados e encaminhados, sob refrigeração em caixa de isopor contendo gelo, para o Laboratório de Genética e Melhoramento Florestal (LabGeM) na UAECIA/UFRN, onde foram armazenados a -20 °C até o momento da extração do DNA. onde

A extração ocorreu pelo método de CTAB proposto por Doyle e Doyle (1987). O DNA obtido foi quantificado por espectrofotometria (espectrofotômetro de microplacas Epoch™) e amplificado por reação em cadeia da polimerase usando doze iniciadores moleculares ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) da Universidade de British Columbia (UBC 807, 809, 810, 818, 824, 825, 827, 830, 840, 842, 851 e 862).

As reações de amplificação foram realizadas em termociclador automático (BioClycle™) durante 1 h 40 min, conforme as etapas a seguir: desnaturação a 94 °C por 2 min, seguida por 37 ciclos de 15 s a 94 °C; e 47 °C por 30 s para anelamento dos iniciadores; posteriormente a 72 °C por 1 min. Após os ciclos, o processo foi finalizado por extensão a 72 °C, por 7 min e resfriamento a 4 °C. Em seguida, os produtos da PCR foram corados com solução de azul de bromofenol e GelRed™ e inseridos em cuba horizontal de corrida da eletroforese contendo gel de agarose (1,5 m.v⁻¹). O gel foi imerso em solução tampão TAE 1X (Tris-acetato-EDTA) e submetido a uma corrente elétrica de 100 V durante 2 h e 40 min para separação dos fragmentos. Na sequência, os géis foram fotografados sob fonte de luz ultravioleta com auxílio de um fotodocumentador de géis (Ebox VX2 Vilbert Lourmat™).

Posteriormente, com os resultados de amplificação das bandas foi gerada uma matriz binária baseada na presença (1) e na ausência (0) dos *loci*.

Delineamento Experimental para seleção de árvores matrizes

No que diz respeito à análise estatística, o experimento foi conduzido em Delineamento Experimental Inteiramente Casualizado (DIC), exceto para o teste de emergência que foi em Delineamento em Blocos ao Acaso, com cinco repetições de 20 sementes para cada árvore (lote). Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e homogeneidade de variâncias ao nível de 5% de probabilidade. Todas as variáveis da qualidade fisiológica de sementes de *A. cearensis* foram submetidas à análise de variância (ANOVA) pelo teste F com médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância. O programa estatístico utilizado foi o software R, versão 3.5.0 (R CORE TEAM, 2018).

A diversidade genética foi analisada utilizando o programa POPGENE (Population Genetic Analysis) versão 1.32 (YEH et al., 1997). O dendrograma de similaridade baseado na identidade genética de Nei (1978) foi gerado pelo método de agrupamento UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean), utilizando o programa NTSYS v.2.11 (ROHLF, 1993). O ponto de corte usado para indicar os grupos formados foi definido considerando a identidade genética de Nei.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização morfométrica dos indivíduos, qualidade física e fisiológica de sementes de *A. cearensis*

No que diz respeito à caracterização morfométrica dos 27 indivíduos, os valores médios e desvio padrão para altura, diâmetro na altura do peito e diâmetro a altura do solo foram de 5,7 m e 1,50; 80,81 m e 33,5; 91,5 m e 30,7, respectivamente. Como visto, os valores no desvio padrão para as variáveis foram relativamente altos, pois quanto mais distantes de zero for o desvio padrão, mais heterogêneos serão os dados amostrais.

Das 27 árvores amostradas no presente estudo, apenas 17 produziram frutos, sendo estas usadas para avaliação da qualidade física e fisiológica das sementes. O grau de umidade das sementes variou de 8,4 a 10,1% entre as árvores. Estes valores estão dentro do limite recomendado que é de 2,0%, no qual é necessário para obter resultados adequados para os testes de qualidade da semente, permitindo o estabelecimento de comparações de qualidade entre lotes e garantindo a padronização das avaliações de sementes (MARCOS FILHO, 2015).

Para a obtenção de sementes de qualidade, é necessário levar em consideração vários aspectos na realização dos processos nos quais as sementes são submetidas. Dentre estes aspectos, pode ser citado o grau de umidade, pois esta determinação física afeta diretamente a qualidade fisiológica e sanitária das sementes, além de auxiliar na tomada de decisões dos procedimentos mais adequados às etapas de colheita, como secagem, beneficiamento e armazenamento (NERY et al., 2004; SARMENTO et al., 2015).

Em relação à qualidade fisiológica das sementes, houve efeito significativo ao nível de 5% de probabilidade para todas as variáveis avaliadas (Tabela 2), indicando que existem diferenças de desempenho fisiológico e de vigor para as sementes de diferentes árvores de *A. cearensis*.

Tabela 1. Aspectos fisiológicos das sementes de *A. cearensis* provenientes de Soledade, Estado da Paraíba, Brasil.

| Grupos* | Árvores |
|---------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Germinabilidade | |
| Grupo 1 (a) | 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 15,17 |
| Grupo 2 (b) | 1, 5, 9, 12 |
| Emergência | |
| Grupo 1 (a) | 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16 |
| Grupo 2 (b) | 1, 12, 17 |
| Índice de velocidade de emergê | |
| Grupo 1 (a) | 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16 |
| Grupo 2 (b) | 12, 17 |
| Condutividade elétrica | |
| Grupo 1 (a) | 1, 3, 7, 9, 12, 16, 17 |
| Grupo 2 (b) | 2, 4, 5, 6, 8, 10, 11, 13, 14, 15 |
| pH de exudato qualitativo | |
| Grupo 1 (a) | 2, 3, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 |
| Grupo 2 (b) | 1, 4, 5, 7, 8, 16, 17 |

* A classificação do grupo foi realizada de acordo com o teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade, os valores superiores estatisticamente são apresentados pela letra "a".

Dentre as 17 árvores avaliadas, 14 (82%) indivíduos de *A. cearensis* produziram sementes com porcentagem de emergência com qualidade fisiológica superior a 79% (grupo 1), enquanto 18% (3 indivíduos) com médias variando de 58 a 68% (grupo 2).

Dessa forma, o teste de emergência tem eficiência para estimar o desempenho no campo, onde as condições ambientais nem sempre são favoráveis. Além disso, esse teste foi eficiente para diferenciar lotes de sementes em diferentes níveis de qualidade fisiológica, submetendo-os a condições de campo adversas, onde é assumido que apenas sementes mais vigorosas irão emergir e provavelmente tenham um bom desempenho quando levadas a campo.

Os testes de vigor, quando avaliados conjuntamente com o teste de germinação, permitem a classificação de alto ou baixo vigor nas sementes de diferentes lotes (OLIVEIRA et al., 2018). O índice de velocidade de emergência das sementes das árvores do grupo 2 (0,37-0,43) foi inferior ao grupo 1 (0,51-0,59), podendo ser atribuído às condições da planta mãe, efeitos do ambiente na formação e maturação da semente, assim como doenças no campo. Em relação ao grupo 1, a maior velocidade obtida evidencia o crescimento mais rápido das plântulas destes lotes, evitando que fiquem expostas às condições ambientais adversas e ocorra melhor

aproveitamento de nutrientes e água no solo, favorecendo-as em campo ou na produção de mudas (GUEDES et al., 2015).

As sementes pertencentes às árvores do grupo 2 apresentaram altos valores de condutividade elétrica (23,45 a 38,45 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}$) quando comparados ao grupo 1 (21,10 a 12,16 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}$), sendo portanto consideradas menos vigorosas. A baixa quantidade de lixiviados liberados durante a embebição indica que a integridade dos seus sistemas de membranas celulares é elevada, resultando em maior vigor e potencial de armazenamento.

Para o teste de germinação foram obtidos valores de germinabilidade que variou entre 85 a 92% (grupo 2) e 94 a 100% (grupo 1). Para espécies florestais, porcentagem de germinação superior a 50% são considerados satisfatórios (FÉLIX et al., 2021), pois normalmente trata-se de espécies que não passaram por processo de domesticação e melhoramento genético.

A avaliação da qualidade fisiológica da *A. cearensis* por meio do teste padrão de germinação é um tanto lenta, pois os resultados requerem 30 dias, que é um longo período para a tomada de decisão sobre os lotes de sementes. Testes mais rápidos permitem agilidade na tomada de decisões, reduzindo os custos que envolvem desde o processo de armazenamento, comercialização de sementes até o plantio (SANTOS et al., 2020).

Nessa perspectiva, o pH de exsudato é uma técnica promissora que oferece a proposta de avaliação da viabilidade das sementes com praticidade e baixo custo, baseado na integridade do sistema de membrana da semente, em que sementes com alto nível de deterioração apresentam maior taxa de lixiviação de íons, e, conseqüentemente, exsudatos com maior poder tampão (CABRERA & PESKE, 2002). Neste estudo a viabilidade das sementes estimada pelo teste de pH do exsudato revelou que os grupos 1 e 2 produziram sementes com alta viabilidade (82-100%), contudo, apresentam-se diferentes estatisticamente.

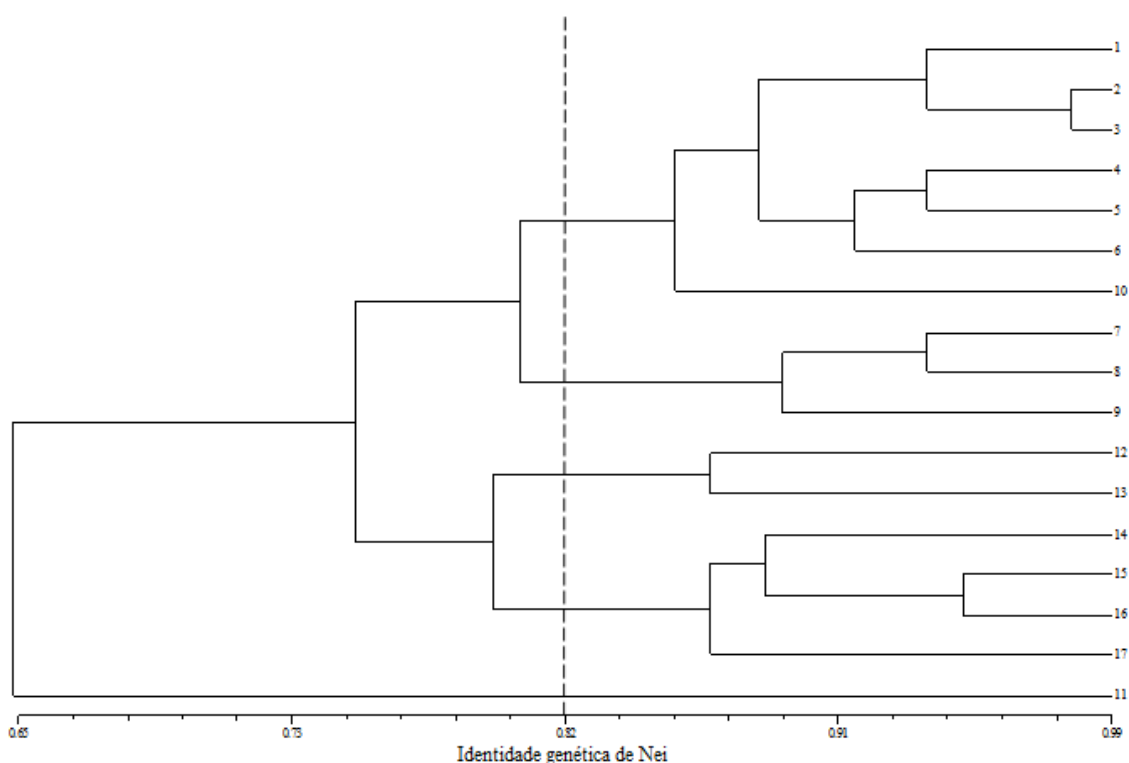
Mediante os resultados obtidos (Tabela 2) pode-se classificar todos indivíduos pertencentes ao grupo 1 e 2 como produtores de sementes com alta qualidade fisiológica.

Diversidade Genética

Para a produção eficiente de sementes de *A. cearensis*, além dos aspectos físicos e fisiológicos, é imprescindível que os atributos genéticos sejam considerados, uma vez que a diversidade genética da espécie possa ser mantida nas sementes (ARAÚJO et al., 2020; FÉLIX et al., 2021). Para tanto, as árvores apresentaram índices de diversidade de Nei e Shannon, respectivamente, $h_e = 0,225 \pm 0,196$ e $I = 0,338 \pm 0,279$ (média \pm erro padrão), com ocorrência de 74 *loci* polimórficos e 80,8% de *loci* polimórficos. Com base na diversidade genética das 17 árvores (Figura 3), foi observada a formação de 5 grupos (Grupos: 11; 17, 16, 15 e 14; 12, 13;

7, 8, 9; 10, 6, 5, 4, 3, 2, 1) no nível de 0,82 (ponto de corte) no dendrograma de similaridade, além disso, observou-se que 1 indivíduo está isolado e é divergente (11). Os pares de indivíduos que apresentaram maior identidade genética foram o 2 e 3 (0,93) e 15 e 16 (0,91), os quais foram agrupados em clusters menores pela análise de agrupamento pelo método UPGMA, sugerindo que esses indivíduos apresentam maior semelhança genética entre si (Figura 3).

Figura 3. Dendrograma da identidade genética de Nei de 17 indivíduos de *A. cearensis* provenientes de Soledade, Estado da Paraíba, Brasil.



A utilização de iniciadores moleculares ISSR são ferramentas úteis quando se deseja selecionar árvores matrizes. Para seleção é recomenda-se que as árvores matrizes para fornecimento de sementes sejam geneticamente divergentes para a formação de lotes de sementes com maior diversidade genética (BELARMINO et al., 2017), a fim de evitar a endogamia nas gerações futuras e preservar o potencial evolutivo da população estabelecida (SEBBENN, 2002). Isso é de grande valor quando as sementes são destinadas à recuperação florestal (SEBBENN, 2002) e conservação de espécies ameaçadas que é o caso da *A. cearensis*.

Dessa forma, conhecer a variabilidade genética entre matrizes permite identificar as matrizes representativas da variabilidade genética existente nas populações e também caracterizar a

situação de conservação da área em estudo com base na variabilidade genética dos indivíduos do local (MORAES et al. 2020).

É importante ressaltar que a existência de variação genética entre as matrizes selecionadas denota uma boa perspectiva para futura instalação de um pomar de sementes florestais (SANTOS et al., 2018) que, além de ser uma excelente alternativa para atender a demanda de sementes em quantidade e qualidade genética, facilita o processo de coleta, já que não seria necessário percorrer grandes distâncias entre uma árvore e outra (HIGA & SILVA, 2006).

Seleção de árvores matrizes

No presente estudo, das 27 árvores amostradas, apenas 17 produziram frutos. Destas, apenas 5 indivíduos de *A. cearensis* foram classificados com alta qualidade fisiológica e selecionadas como árvores produtoras de sementes (Tabela 3). Quando no mesmo grupo determinado pela distância de Nei no nível de 0,82 (Figura 3) pelo menos um indivíduo foi selecionado de cada um dos formados grupos, considerando as árvores que apresentaram emergência (vigor) acima de $58 \geq 89\%$ e viabilidade superior a 82% (Tabela 2). Assim, os indivíduos de *A. cearensis* selecionados na Tabela 3 podem ser indicados como árvores matrizes produtoras de semente de alta qualidade, em função dos critérios estabelecidos de diversidade genética (distância genética de Nei $< 0,82$) (Figura 3) e fisiológica.

Tabela 2. Seleção das árvores matrizes conforme os critérios de diversidade genética e qualidade fisiológica de *A. cearensis*.

| Grupos do dendrograma de Nei | Indivíduos de cada grupo (Diversidade genética) | Indivíduos selecionados* (Qualidade fisiológica e genética) |
|------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| 1 | 11 | 11 |
| 2 | 17,16,15 e 14 | 17 |
| 3 | 12 e 13 | 13 |
| 4 | 7, 8, 9 | 9 |
| 5 | 10,6,5,4,3,2,1, | 10 |

*Indivíduos selecionados: árvores classificadas segundo os parâmetros de qualidade genética e fisiológica

A seleção das árvores matrizes é uma etapa fundamental na produção de sementes, pois aumenta a qualidade dos lotes de sementes para o plantio, armazenamento e comercialização (FELIX et al., 2021). Além disso, são essenciais para subsidiar projetos de conservação, por meio de programas para restaurar ou recuperar áreas degradadas, reflorestamento e melhoramento genético das populações naturais de *A. cearensis*.

Diante do exposto, a população em estudo possui árvores com potencial como matrizes produtoras de sementes, por apresentarem indivíduos com qualidade fisiológica alta e alta/intermediária, além de uma diversidade genética intrapopulacional intermediária, fundamentada nos valores de identidade de Nei, índice de Shannon e pelo método UPGMA. 30 Deve ser ressaltado que este estudo foi baseado em uma população de *A. cearensis* no bioma Caatinga, sendo necessários estudos em outras áreas de ocorrência naturais, visto que a espécie não possui ampla distribuição geográfica e apresenta-se ameaçada de extinção.

CONCLUSÕES

As árvores de *A. cearensis* podem ser selecionadas como indivíduos produtores de sementes para fins de conservação quando a distância genética de Nei é $< 0,82$, cujas sementes apresentam emergência (vigor) de $58 \geq 89\%$, germinabilidade (viabilidade) $82 \geq 100\%$. Assim, apenas 29% dos indivíduos atendem a requisitos de diversidade genética e qualidade física e fisiológica como árvores matrizes com vistas à produção de sementes e conservação da espécie.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro para realização desse projeto de pesquisa (Projeto Universal 437955/2018-4). O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Ao Laboratório de Genética e Melhoramento Florestal (LABGen) da UFRN, pela infraestrutura e apoio fornecido. Os autores agradecem a Dona Izabel Amélia de Araújo (Sítio Manoel de Sousa), pela concessão deste estudo em suas propriedades.

REFERÊNCIAS

- Adhikari, S.; Saha, S.; Biswas, A.; Rana, T.S.; Bandyopadhyay, T.K.; Ghosh, P. Application of molecular markers in plant genome analysis: A review. *The Nucleus*, v.60, n.3, p.283-297, 2017. <https://doi.org/10.1007/s13237-017-0214-7>.
- Araldi, C.G.; Coelho, C.M.M. pH do exsudato na avaliação da viabilidade de sementes de *Araucaria angustifolia*. *Floresta e Ambiente*, v.22, n.3, p.426-433, 2015. <http://dx.doi.org/10.1590/2179-8087.082314>.

Araujo, F.D.S.; Felix, F. C.; Ferrari, C. D. S.; Vieira, F.D.A.; Pacheco, M.V. Seed quality and genetic diversity of a cultivated population of *Mimosa caesalpinifolia* Benth. Revista Caatinga, v.33, n.4, p.1000-1006, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n415rc>.

Araújo, M.M.; Navroski, M.C.; Schorn, L.A. Produção de sementes e mudas: um enfoque à silvicultura. Santa Maria: UFSM, 2018, 448 p.

Belarmino, K.S.; Rêgo, M.M.; Bruno, R.L.A.; Medeiros, G.D.A.; Andrade, A.P.; Rêgo, E.R. Genetic diversity in a *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz population assessed by RAPD molecular markers. Genetics and Molecular Research, v.16, n.3, p.1-10, 2017. DOI: 10.4238 / gmr16039663.

Biernaski, F.A.; Higa, A.R.; Silva, L.D. Variabilidade genética para caracteres juvenis de progênes de *Cedrela fissilis* Vell.: subsídio para definição de zonas de coleta e uso de sementes. Revista *Árvore*, v.36, p.49-58, 2012. <https://www.scielo.br/j/rarv/a/Hz8ng94WfVrR3Px3NTdkMym/?format=pdf&lang=pt>.

Brasil. Decreto Nº 10.586, de 18 de dezembro de 2020. Regulamentação da Lei nº 10.711, de 5 de agosto de 2003, que dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudas. Diário oficial da República Federativa do Brasil, p.1-35. 2020.

Brasil. Decreto nº 5.153, de 23 de julho de 2004. Regulamentação da Lei nº 10.711, de 5 de agosto de 2003, que dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudas-SNSM. Diário oficial da República Federativa do Brasil, p.1-62. 2004.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instruções para análise de sementes de espécies florestais. Secretaria de Defesa Agropecuária, 2013.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009.

Cabrera, A.C.; Peske, S.T. Testes do pH do exsudato para sementes de milho. Revista Brasileira de Sementes, v.24, n.1, p.134-140, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222002000100019>.

Chagas, K.P.T.; Sousa, R.F.; Fajardo, C.G.; Vieira, F.A. Seleção de marcadores ISSR e diversidade genética em uma população de *Elaeis guineensis*. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v.10, n.1, p.147-152, 2015. DOI:10.5039/agraria.v10i1a5133.

Doyle, J.J.; Doyle, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, v.12, n.1, p.13-15, 1987.

Felix, F.C.; Medeiros, J.A.D.; Ferrari, C.S.; Chagas, K.P.T.; Castro, M.L.L.; Souza, W. M. A.T.; Vieira, F.A.; Pacheco, M.V. Selection of *Pityrocarpa moniliformis* (Benth.) Luckow & RW Jobson mother trees for seeds production. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v.16, n.2, p.1-10, 2021. <https://doi.org/10.5039/agraria.v16i2a8429>.

Ferreira, C.D.; Souza, A.M.; Martins, R.D.C.C.; Sales, F.D.C.V.; Freire, A. L.O; Costa, A. S. Potencial fisiológico de sementes de *Peltogyne confertiflora* (Mart. Ex Hayne) Benth. por testes bioquímicos. Brazilian Journal of Development, v.6, n.9, p.66428-66439, 2020. DOI:10.34117/bjdv6n9-178.

Guedes, R.S. Testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith. Areia-PB: Universidade Federal da Paraíba, 2012. 79p. Tese Doutorado.

Guedes, R.S.; Alves, E.U.; Santos-Moura, S.S; Galindo, E.A. Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) AC Smith. Ciências Agrárias, v.36, n.4, p.2373-2381, 2015. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n4p2373>.

Higa, A.R.; Silva, L.D. Pomar de Sementes de Espécies. Florestais Nativas. 1ed. Curitiba, PR: FUPEF, 2006, v. 1, p. 1-264.

IUCN. *Amburana cearensis*. International Union for Conservation of Nature red list, 2021. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.1998.RLTS.T32291A9687595.en>. Acesso em: 29 de jul. de 2021.

Köppen, W.; Geiger, R. *Klimate der Erde*. Gotha: Verlag Justus Perthes. Wall-map 150 x 200 cm. 1928.

Labouriau, L.G. Capacidade e velocidade de germinação. In: LABOURIAU, L.G. *A germinação das sementes*. Washington: OEA, 1983. p.45-62.

Lara-Fioreze, A.C.C.; Tomaz, C.A.; Fioreze, S.L.; Pilon, C.; Zanotto, M.D. Genetic diversity among progenies of *Crambe abyssinica* Hochst for seed traits. *Industrial Crops and Products*, v.50, p.771-775, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.039>.

Lima, C.R.D.; Bruno, R.D.L.A.; Andrade, A.P.D.; Pacheco, M.V.; Quirino, Z.G.M., Silva, K. D.R.G.D.; Belarmino, K.D.S. Phenology of *Poincianella pyramidalis* (Tul.) LP Queiroz and its relationship with the temporal distribution of rainfall in the brazilian semi-arid region. *Ciência Florestal*, v.28, n.3, p.1035-1048, 2018. <https://doi.org/10.5902/1980509833387>.

Maguire, J.D. Speed of germination-aid seedling emergence and vigor. *Crop Science*, v.2, n.2, p.176-177, 1962.

Marcos Filho, J. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. 2.ed. Londrina: ABRATES, 2015. 660p.

Medeiros, J.A.D.D.; Nunes, S.P.L.; Félix, F.C.; Ferrari, C.D.S.; Pacheco, M.V.; Torres, S.B. Vigor test of (strong) normal intact *Amburana cearensis* (Allemão) AC Smith seedlings. *Journal of Seed Science*, v.42, p.1-10, 2020. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42221611>.

Moraes, M.C.D.; Mengarda, L.H.G.; Canal, G.B., Pereira, P.M.; Ferreira, A.; Ferreira, M. F. D. S. Diversidade genética de matrizes e progênies de *Euterpe edulis* Mart. em área manejada e em populações naturais por marcadores microssatélites. *Ciência Florestal*, v.30, n.3, p.583-594, 2020. <https://doi.org/10.5902/1980509837647>.

Nakagawa, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: Krzyzanoski, F.C.; Vieira, R.D.; França Neto, J.B. (Org.) *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, 1999. p.218.

Nei, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, v. 89, n. 3, p. 583-590, 1978.

Nery, M.C.; Carvalho, M.L.M.; Oliveira, L.M. Determinação do grau de umidade de sementes de ipê-do-cerrado *Tabebuia ochracea* ((Cham.) Standl.) pelos métodos de estufa e forno de microondas. *Ciência e Agrotecnologia*, v.28, n.6, p.1299-1305, 2004. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542004000600011>.

Ng, W.L.; Tan, S.G. Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers: are we doing it right. *ASM Sci J*, v.9, n.1, p.30-39, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/283256624_InterSimple_Sequence_Repeat_ISSR_markers_Are_we_doing_it_right.

Oliveira, L.M.; Araújo, M.M.M.; Flores, A.V.; Wielewicki, A.P.; Poletto, T.; Fantinel, V.S. Análise da qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes florestais. Araújo, M.M.; Navroski, M.C.; Schorn, L.A. (org.) *Produção de sementes e mudas: um enfoque à silvicultura*. Santa Maria: Editora UFSM, 2018. p.123-143.

Pareyn, F.G.C.; Araújo, E.L.; Drumond, M.A.; Miranda, J.A.C.; Souza, C.A.; Silva, A.P.S.; Brazolin, S.; Silva, A.P.S.; Marques, K.K.M. Espécies Madeireiras Nativas da Região Nordeste: *Amburana cearensis*. In: Coradin, L.; Camillo, J.; Pareyn, F. G. C. de (Org). *Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial plantas para o futuro: Região Nordeste*. Brasília – DF: MMA, 2018, p.732-739.

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

Rohlf, F.J. Numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.1. User Guide. New York: Applied Biostatistic, 2000. 142p.

Santos, L.F.; Oliveira, E.J.; Silva, A.S. ISSR Markers as a tool for the assessment of genetic diversity in *Passiflora*. *Biochemical Genetics*, v.49, n.7-8, p.540–554, 2011. <https://doi.org/10.1007/s10528-011-9429-5>.

Santos, M.D.A.D; Oliveira, I.C.D; Nogueira, G.A; Silva, J.B.D; Candido, A.C.D.S; Alves, C.Z. test of exudate pH in rice seeds. *Revista Caatinga*, v.32, p.960-965, 2020. <https://doi.org/10.1590/1983-21252019v32n412rc>.

Santos, P.H.R.; Giordani, S.C.O.; Soares, B.C.; Silva, F.H.L.E.; ESTEVES, E.A.; Fernandes, J.S.C. Genetic divergence in populations of *Caryocar brasiliense* Camb. from the physical characteristics of the fruits. *Revista Árvore*, Viçosa, v. 42, n.1, p.1-8, 2018. <https://doi.org/10.1590/1806-90882018000100016>.

Sarmento, H. G.S.; Souza David, A.M.S.; Barbosa, M.G.; Nobre, D.A.C.; Amaro, H. T. R. Determinação do teor de água em sementes de milho, feijão e pinhão-manso por métodos alternativos. *Energia na Agricultura*, v.30, n.3, p.250-256, 2015. <https://doi.org/10.17224/EnergAgric.2015v30n3p250-256>.

Sebbenn, A.M. Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas. *Revista do Instituto Florestal São Paulo*. v.14, n.2, p.115-132, 2002. https://www.researchgate.net/publication/256652269_SEBBENN_AM_Numero_de_arvores_matrizes_e_conceitos_geneticos_na_coleta_de_sementes_para_reflorestamentos_com_especies_nativas_Revista_do_Instituto_Florestal_v_14_n_2_p_115-132_2002. 17 set. 2021.

Souto, P.C.; GONCALVES, E.P.; Viana, J.S.; Silva, J.C.; Ferreira, D.T.; Ralph, L.N. Exudate-phenolphthalein pH test for evaluation of validity in seeds of *Libidibia ferrea*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.91, n.4, p.1-10, 2019. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201920180734>.

Stallbaun, P.H.; Souza, P.; Martins, R.; Matos, J.; Moura, T. Testes rápidos de vigor para avaliação da viabilidade de sementes de *Anadenanthera falcata*. *Enciclopédia Biosfera*, v.11, n.21, p.1-13, 2015. <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/1911>.

Theodoro, J.V.C.; Cardoso, F.B.; Rego, C.H.Q.; Cândido, A.C.D.S.; Alves, C.Z. Exudate pH and flooding tests to evaluate the physiological quality of soybean seeds. *Revista Caatinga*, v.31, n.3, p.667-673, 2018. <https://doi.org/10.1590/1983-21252018v31n315rc>.

Yeh, F.C.; Yang, R.C.; Boyle, T.B.J.; Ye, Z.H.; Mao, J.X. Pop-gene, the user-friendly shareware for population genetic analysis molecular biology and biotechnology center. Edmonton: Molecular Biology and Biotechnology Center; University of Alberta, 1997.

Capítulo 2

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS DE
Amburana cearensis (ALLEMÃO) A.C.SM NA CAATINGA**

Diversidade genética de populações naturais de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C.SM na Caatinga

Resumo

Amburana cearensis é uma árvore nativa da Caatinga com potencial econômico e ambiental, porém é ameaçada de extinção devido à exploração e uso predatório. Dessa forma, torna-se imprescindível os estudos diversidade genética para criação de estratégias para a conservação da espécie. Diante do exposto, objetivou-se selecionar iniciadores ISSR e avaliar a diversidade genética de três populações naturais de *A. cearensis* na Caatinga de modo a fornecer subsídios visando instalações de Áreas de Coleta de Sementes e de Pomares de Sementes Florestais. Foram amostrados 64 indivíduos na população de Caicó/RN, Assu/RN e Soledade/PB. Brasil. Para isso, avaliou-se o perfil de amplificação de 30 iniciadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) usando uma amostra de DNA molde de seis indivíduos (bulk). Doze iniciadores (UBC 807, 809, 810, 818, 824, 825, 827, 830, 840, 842, 851 e 862) revelaram *loci* múltiplos, com boa resolução e reprodutíveis para amplificar o DNA de 64 indivíduos. De acordo com o método de reamostragem 89 *loci* foi considerado satisfatório acessar a diversidade genética desta amostra. Os índices de diversidade genética avaliados dentro e entre essas três populações foram índice de diversidade genética de Nei (H_e), índice de Shannon (I), heterozigosidade total (H_t), diferenciação genética (G_{ST}) e fluxo gênico. Foram encontrados valores informativos e satisfatório para índices de diversidade genética para as árvores da população de Caicó ($H_e = 0,152$; $I = 0,232$), Soledade ($H_e = 0,225$; $I = 0,338$) e Assu ($H_e = 0,240$; $I = 0,350$). Entretanto, para diversidade genética de Nei ($H_e = 0,364$), índice de Shannon ($I = 0,539$) heterozigosidade total ($H_t = 0,371$), diferenciação genética ($G_{ST} = 0,447$), apenas entre as populações esses valores foram moderadamente satisfatórios. O fluxo gênico foi baixo ($N_m = 0,620$), indicando isolamento ou fragmentação das populações. Para caracterização morfométrica foram observadas classes de árvores mais altas em Assu, indicando a diminuição de regeneração da espécie na área. Além disso, a partir do grupamento da identidade genética de Nei de um ponto de 0,87 é possível identificar a formação de 28 grupos bem definidos. Portanto, os dados genéticos obtidos no presente estudo contribuem para estratégias de conservação visando a seleção árvores matrizes para coleta e produção de sementes de espécies ameaçadas.

Palavras-chave: árvores matrizes, produção de sementes florestais, conservação genética, extinção, iniciador molecular

Genetic diversity of natural populations of *Amburana cearensis* (Allemão) A.C.SM in Caatinga

Abstract

Amburana cearensis is a native Caatinga tree with economic and environmental potential. However, it is threatened with extinction due to exploitation and predatory use. Thus, genetic diversity studies are essential to create an approach for the conservation of the species. Given the above, the objective was to select ISSR primers and evaluate the genetic diversity of three natural populations of *A. cearensis* in the Caatinga in order to provide subsidies for the installation of Seed Collection Areas and Forest Seed Orchards. 64 individuals were sampled in the population of Caicó/RN, Assu/RN and Soledade/PB. Brazil. To do this, we evaluated the amplification profile of 30 ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) primers using a sample of six-product (bulk) DNA template. Twelve primers (UBC 807, 809, 810, 818, 824, 825, 827, 830, 840, 842, 851 and 862) revealed multiple loci, with good resolution and reproducible to amplify the 64-fragment DNA. According to the resampling method 89 loci was considered satisfactory when accessing the genetic diversity of this sample. The genetic diversity indices within these three groups were Nei's genetic diversity index (H_e), Shannon's index (I), total heterozygosity (H_t), genetic differentiation (G_{ST}) and gene flow. Informative and satisfactory values were found for genetic diversity indices for trees in the population of Caicó ($H_e = 0.152$; $I = 0.232$), Soledade ($H_e = 0.225$; $I = 0.338$) and Assu ($H_e = 0.240$; $I = 0.350$). However, for Nei genetic diversity ($H_e = 0.364$), Shannon index ($I = 0.539$), total heterozygosity ($H_t = 0.371$), genetic differentiation ($G_{ST} = 0.447$), only between how these values were moderately satisfactory. Gene flow was low ($N_m = 0.620$), indicating isolation or fragmentation of populations. For morphometric characterization, higher classes were observed in Assu, indicating a decrease in species regeneration in the area. Furthermore, it was possible to observe from the Nei genetic identity group of a point of 0.87, it is possible not to identify the formation of 28 well-defined groups. Therefore, the genetic data obtained in this study contribute to the migration of tree selection categories for the collection and production of seeds of threatened species.

Keywords: matrix trees, forest seed production, genetic conservation, extinction, molecular initiator.

INTRODUÇÃO

Amburana cearensis (Allemão) A.C.S.M. (Fabaceae) é uma espécie nativa do bioma Caatinga com múltiplos usos, com grande importância socioeconômica e ecológica (SILVA et al., 2013; SANTIAGO et al., 2014; PAREYN et al., 2018), mas devido à exploração de seus produtos madeireiros de forma predatória e sem manejo sustentável apropriado (GUEDES et al., 2010), encontra-se em risco de extinção, estando as populações remanescentes gravemente fragmentadas e em declínio contínuo de indivíduos maduros (IUCN, 2021). Desse modo, a conservação e recuperação dos recursos genéticos desta espécie é essencial para aumentar as suas perspectivas de sobrevivência na Caatinga.

Portanto, é imperativo quantificar a diversidade genética das populações remanescente de *A. cearensis*, pois ela determina a capacidade dos organismos de se adaptarem às mudanças ambientais (XIANG et al., 2020). Sua ausência reduz as chances de sobrevivência ao longo dos anos, aumentando o risco de extinção das espécies (SPIGLER et al., 2017; XIANG et al., 2020). Conseqüentemente, estudos de diversidade genética visando à caracterização dos graus de variabilidade e estrutura genética e o conhecimento da movimentação de alelos promovem as bases necessárias da execução de estratégias para maximizar a eficiência dos programas de manejo e conservação genética (ROSSI et al., 2014), a exemplo das Áreas de Coleta de Sementes e de Pomares de Sementes Florestais.

Na caracterização da diversidade genética, basicamente são utilizados marcadores morfológicos, bioquímicos, citológicos e iniciadores moleculares. Estes últimos apresentam a particularidade de poderem ser utilizados para a análise em qualquer estágio de desenvolvimento da planta (KAMADA et al. 2009). Assim, o uso de iniciadores moleculares *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR) são ferramentas úteis para determinar os níveis de diversidade genética das populações (CAIXETA & BORÉM, 2016). Além de ser uma técnica molecular de menor custo, não requer conhecimento prévio das sequências alvo, gerando elevado número de *loci* polimórficos e alta reprodutibilidade (NG & TAN, 2015; GROVER & SHARMA, 2016). Entretanto, para a *A. cearensis* não existe relato sobre estudos com iniciador molecular ISSR.

Estes iniciadores têm sido utilizados com sucesso em estudos genéticos com espécies florestais da Caatinga. Eles foram utilizados para caracterização genética populacional de *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae) (GONÇALVES et al., 2014), *Hancornia speciosa* Gomes

(Apocynaceae) (COSTA et al., 2015), seleção de árvores matrizes e avaliação de progênies de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (Fabaceae) (ARAÚJO et al., 2020; 2021).

Diante do exposto, objetivou-se a seleção de iniciadores ISSR e avaliar a diversidade genética de três populações naturais de *A. cearensis* na Caatinga de modo a fornecer subsídios visando produção de sementes florestais.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização e histórico dos sítios

Foram amostradas 64 árvores distribuídas em três sítios de Caatinga nos municípios de Soledade (7 ° 09 '40,8" S e 36 ° 18' 25,8"O) no Estado da Paraíba; de Assu (05°34'20" S e 36°54'33"O) e Caicó (06°36'10" S e 37°12'24"O), ambos no Estado do Rio Grande do Norte. De acordo com a Tabela 1, o clima local onde as populações ocorrem é quente e seco, classificado conforme Köppen (1948) como do tipo semiárido e subtipo BS'h (precipitação pluvial média de 500 mm.ano⁻¹). Entre as temperaturas anuais em Caicó (LUCENA et al., 2013) e Assu (COSTA et al.,2010) apresentam-se mais elevadas quando comparadas com as de Soledade (LIMA et al., 2018). O solo das regiões apresenta-se como rasos pedregosos/arenosos (LUCENA, et al., 2013; LIMA et al., 2018).

Tabela 1. Caracterização das áreas das populações de *A. cearensis* amostrada em Soledade (Paraíba), Assu e Caicó (Rio Grande do Norte), Brasil.

| Dados | Soledade/PB | Caicó/RN | Assu/RN |
|--------------------------------------|--------------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Localização | 7 ° 09 '40,8" S 36 ° 18'25,8"O | 06°36'10" S 37°12'24"O | 05°34'20" S 36°54'33"O |
| Clima | Semiárido | Semiárido | Semiárido |
| Temperatura (°C) | 23,8 | 26,0 | 28,1 |
| Precipitação (mm.ano ⁻¹) | 500 | 500 | 500 |
| Solo | Rasos e arenosos | Rasos e pedregosos | Rasos e pedregosos |
| Histórico de uso | Pastagem nativa | Pastagem nativa | Pastagem nativa e agricultura |
| Ecosistema atual | Pastagem nativa | Pastagem nativa | Unidade de conservação |

A coleta de informação acerca do histórico de uso das terras nas populações de Caicó e Soledade foram realizadas a partir de diálogo formal e direto com os proprietários. Os sítios onde as populações de Caicó e Soledade ocorrem é utilizada como pastagem nativa há mais de

100 anos e no seu entorno são praticadas atividades agrícolas (plantação de milho, feijão e palma forrageira) e madeireiras. No entanto, o sítio de Assu trata-se de uma Unidade de Conservação que há aproximadamente 20 anos vem se recuperando de atividades agrícolas (ICMBIO, 2019) (Tabela 1).

Caracterização morfométrica dos indivíduos

Para caracterização morfométrica dos indivíduos mensurou-se a altura total estimando por medida direta, diâmetro na altura do peito (DAP) e diâmetro na altura do solo (DAS) com auxílio de fita métrica e a identificação foi realizada com placas de alumínio e georreferenciadas.

Obtenção das amostras de tecidos foliares

Para a extração de DNA foram amostradas folhas jovens a partir de 64 árvores, com uma distância mínima entre indivíduos equivalente a duas vezes à altura da árvore, conforme critérios descritos por Sebbenn (2002). Os dados de localização das árvores foram cadastrados no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) (número de cadastro: A5DB85E). As amostras foliares foram encaminhadas sob refrigeração em caixa de isopor contendo gelo para o Laboratório de Genética e Melhoramento Florestal (LabGeM) na Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias/Universidade Federal do Rio Grande do Norte, localizado no Campus de Macaíba, Rio Grande do Norte, onde foram acondicionadas em microtubos de 2 mL contendo CTAB 2X (brometo de cetiltrimetilamônio), identificados e armazenados a -20 °C até o momento da extração do DNA.

Extração de DNA

O DNA foi extraído pelo método de CTAB proposto por Doyle & Doyle (1987), utilizando-se 100 mM de Tris pH 8,0; 1,4 M de NaCl; 20 mM de EDTA pH 8,0; 2% (w.v⁻¹) CTAB; 1% (w.v⁻¹) PVP-40 e 0,2% (v.v⁻¹) de β-mercaptoetanol pré-aquecido a 60 °C em banho-maria. Após a extração, o DNA foi diluído com o TE (Tris-HCl 10 mM; EDTA mM pH 8,0) variando entre 30, 50 e 100 µL. O DNA obtido foi quantificado por espectrofotometria (espectrofotômetro de microplacas EpochTM). Foram testados 30 iniciadores moleculares ISSR (University of British Columbia – UBC primer set #9, Vancouver, Canadá) utilizando uma amostra de DNA molde extraída em Bulk de seis indivíduos selecionados aleatoriamente das populações. Os iniciadores

que apresentaram os melhores padrões de amplificação, qualidade de resolução e reprodutibilidade dos *loci* foram selecionados para as análises genéticas.

Reações de amplificação PCR-ISSR

Para as reações de amplificação PCR-ISSR foi utilizado mix de PCR em um volume final de 12 μL por amostra, contendo: tampão (Buffer IC Phoneutria[®]) (10x); BSA (1,0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$); MgCl_2 (50 mM); dNTPs (2,5 mM); primers (2 μM); Taq polimerase (0,5 $\text{U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$), DNA molde e água ultrapura.

As reações de amplificação foram realizadas em termociclador automático (BioClycle[™]) durante o período de 1 h 40 min conforme as etapas: desnaturação à 94 °C por 2 min, seguida por 37 ciclos de 15 s a 94 °C, e 47 °C, por 30 s para anelamento dos iniciadores, posteriormente, a 72 °C, por 1 min. Após os ciclos, o processo foi finalizado por extensão a 72 °C, por 7 min e resfriamento a 4 °C.

Eletroforese

Os produtos da PCR foram corados com solução de azul de bromefenol e GelRed[™] e inseridos em cuba horizontal de corrida da eletroforese contendo gel de agarose (1,5 $\text{m}\cdot\text{v}^{-1}$). Foi utilizada em reação um controle negativo (mix de PCR sem DNA molde), um controle positivo (mix de PCR com DNA amplificado da espécie), uma espécie controle (mix de PCR com DNA molde de *Copernicia prunifera*) e um padrão de peso molecular de 1 KB (Ladder Kasvi[®]) para verificar se não ocorreu contaminação ou erro nos processos das reações (PCR e eletroforese). O gel foi imerso em solução tampão TAE 1X (Tris-acetato-EDTA) e submetido a uma corrente elétrica de 100 V durante 2 h e 40 min para separação dos fragmentos. Em seguida, os géis foram fotografados sob fonte de luz ultravioleta com auxílio de um fotodocumentador de géis (Ebox VX2 Vilbert Lourmat[™]).

Posteriormente, com os resultados de amplificação das bandas foram gerados uma matriz binária baseada na presença (1) e na ausência (0) dos loci.

Análise dos dados

a) Características morfométricas das árvores: As características morfométrica para altura (m), diâmetro na altura do peito (cm) e diâmetro na altura do solo (cm) das árvores foram analisadas mediante distribuição de frequência e estatística descritiva por meio de um gráfico tipo boxplot compreendendo os valores mínimos, máximos e a média. Os dados das variáveis em estudo foram distribuídos em histogramas. Em seguida, as médias dos métodos foram

comparadas pelo teste não parâmetro de Kruskal wallis ao nível de 5% de significância utilizando o software Past[®] versão 3.20. (HAMMER & HARPER, 2008). Os valores de referência adotados para o coeficiente de assimetria foram: $S < 0$, distribuição assimétrica à esquerda e $S > 0$, distribuição assimétrica à direita. Para o coeficiente de curtose foram: $K > 0,263$, leptocúrtica e $K < 0,263$, platicúrtica. Utilizando o Software BioEstat[®] versão 5.0 (AYRES et al., 2007).

b) Informatividade dos primers: o conteúdo de informação polimórfica (PIC) foi usado para avaliar a eficiência dos iniciadores e identificar o polimorfismo entre os indivíduos com base a ausência ou presença de bandas. O PIC foi estimado conforme a equação proposta por Anderson et al. (1993):

$$PIC_i = 1 - \sum_{j=1}^n P_{ij}^2$$

Em que P_{ij} é a frequência do alelo “j” no iniciador “i”.

Os resultados obtidos no cálculo foram classificados em três categorias, sendo elas: “satisfatório em conteúdo informativo”, quando PIC for acima de 0,50; “mediamente informativo” se este valor variar entre 0,25 a 0,50; “pouco informativo”, quando o valor de PIC for observado abaixo de 0,25 (BOTSTEIN et al., 1980).

c) Diversidade genética: para os parâmetros de diversidade genética foram analisados utilizando o programa POPGENE (Population Genetic Analysis) versão 1.32 (YEH et al., 1997), no qual foram obtidos número total de *Loci*, número de loci polimórficos (P_L), taxa de polimorfismo ($\%P_L$); a porcentagem de loci polimórficos ($\%PL$), diversidade genética de Nei (H_e), índice de Shannon (I) heterozigosidade total (Ht), diferenciação genética (G_{ST}) e fluxo gênico histórico (Nm).

d) Número ótimo de *loci*: para verificar a quantidade ótima de fragmentos polimórficos para os estudos de genética de uma população de *A. cearensis*, foi realizada a análise de bootstrap por meio do software GENES (CRUZ, 2001). A partir dos dados de *loci* amplificados foi estimada a distância genética de Nei (1978), a qual foi correlacionada aos valores de distância genética simulados com base em reamostragens de 10.000 permutações. O ajuste entre as distâncias genéticas foi verificado por meio do teste de Kruskal que indica o ajuste entre a matriz original e a matriz simulada.

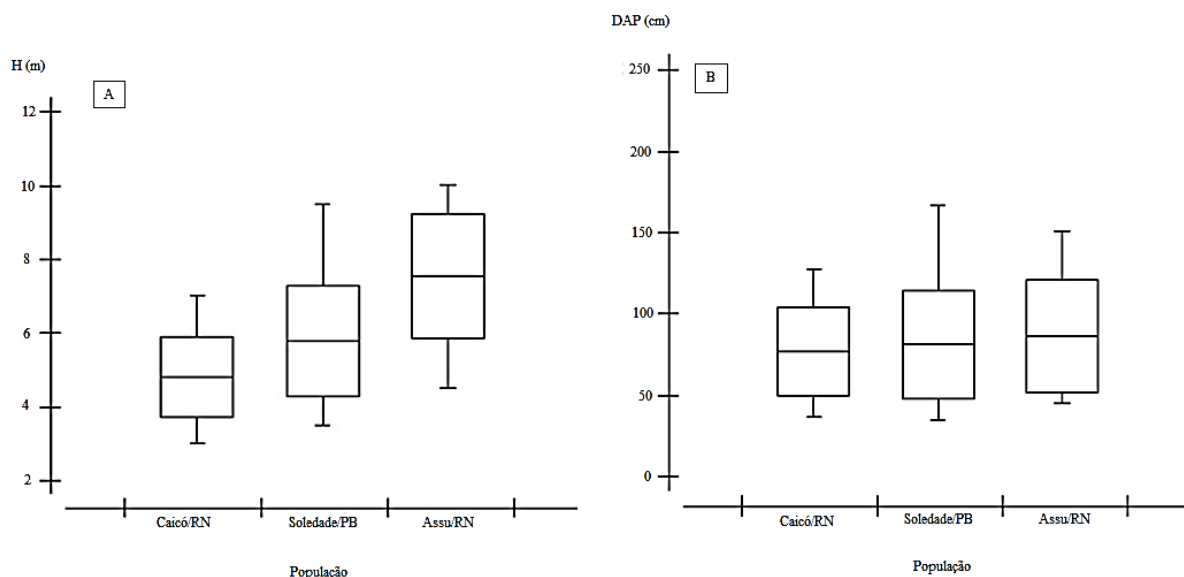
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização morfométrica das árvores

Constatou-se árvores mais altas na população de Assu e, de menor porte em Caicó e Soledade. Em relação à circunferência a altura do peito e o diâmetro na altura do solo, foi observado que não houve variação para as médias, mínimos e máximos para as três populações (Figura 1). Vale salientar, que esse resultado também foi confirmado pelo teste *Kruskal-Wallis* ao nível de probabilidade ($p < 0.05$), em que as três populações apresentaram diferença estatística entre si apenas altura ($H = 19,02$, $p = 7,411$).

Em relação à assimetria, as variáveis altura e DAP para as árvores das três populações apresentaram coeficiente de assimetria (S) positivo, com distribuição assimétrica a direita ($S > 0$), indicando que indivíduos com menor altura e DAP preponderam na amostra analisada, com exceção para a população de Assu em que altura apresentou assimetria negativa com distribuição assimétrica à esquerda ($S < 0$), apontando maior número de árvores com maior altura. Já para os valores de curtose indicaram que todas as características tiveram uma distribuição platicúrtica ($K < 0,263$), indicando ampla distribuição dos dados (Figura 2).

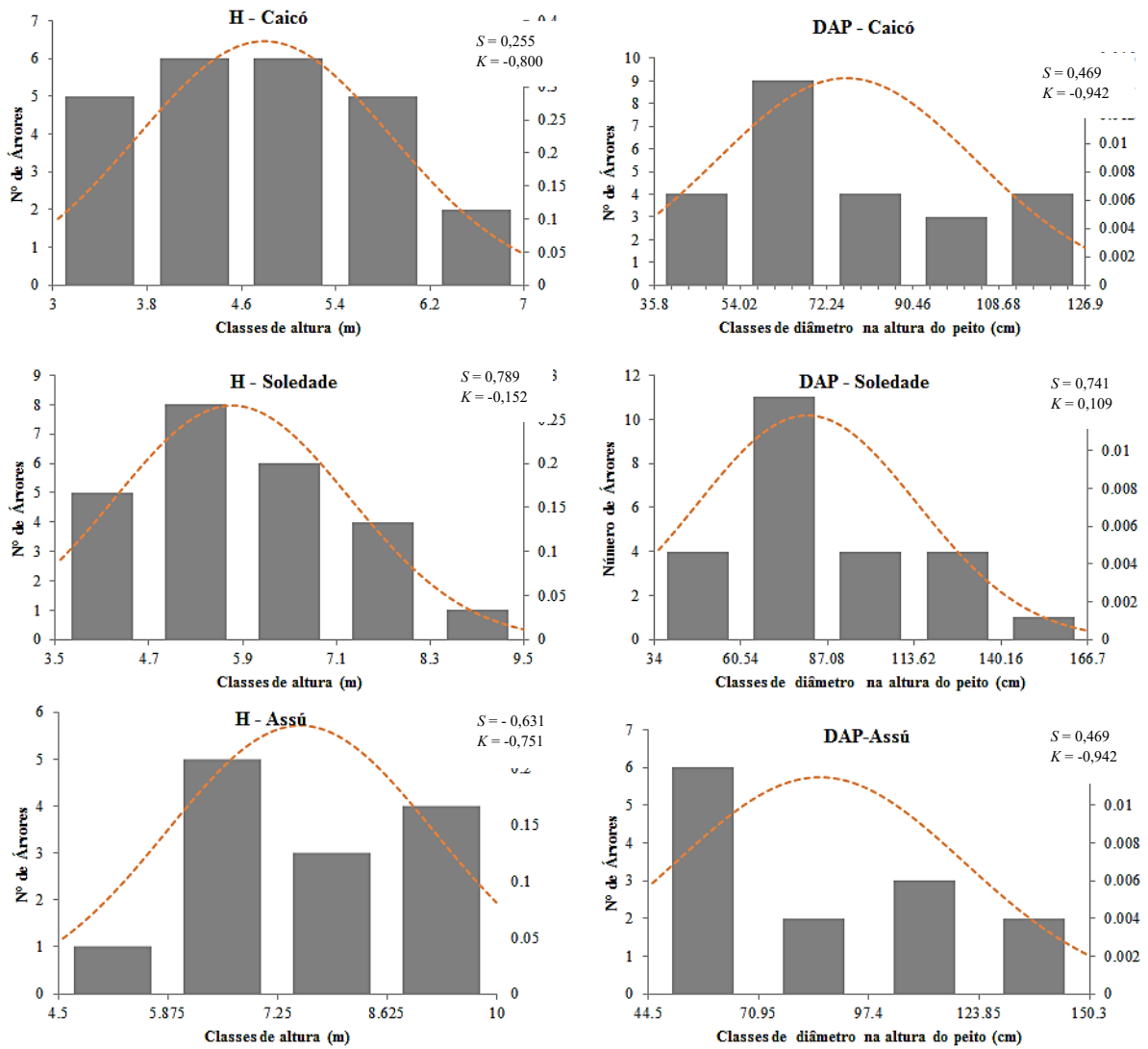
Figura 1. Blox-plot para parâmetros de altura (H) (A) e diâmetro na altura do peito (DAP) (B) das árvores de *A. cearensis* nas populações de Caicó, Soledade e Assu.



De acordo com a distribuição para as características básicas da *A. cearensis*, na população de Assu apenas um indivíduo ocorre na primeira classe de altura 4,5 m. Isso revela que a maioria das árvores desta população pertence a estádios ontogenéticos avançados. A diminuição de

árvores mais jovens ao longo dos anos pode acentuar o processo de extinção da espécie na área, pois isso prejudica a renovação dos indivíduos reprodutivos ao longo do tempo. Atualmente a Flona de Açú é uma área de conservação, porém, por anos foi antropizada e isso refletiu em sua fitofisionomia representada pela presença acentuada de espécies típicas de ambientes antropizados (ANDRADE et al., 2005). Para as populações de Caicó e Soledade foram observadas predominância de árvores em classes de alturas menores na primeira a terceira classe. Isso reforça a hipótese de que árvores mais velhas com altura superiores estão sucumbindo pela idade ou devido à exploração a partir do uso predatório e indiscriminado.

Figura 2: Distribuição da frequência em diferentes classes de altura (H) e circunferência na altura do peito (DAP) encontradas nas árvores de *Amburana cearensis* localizadas em Soledade, (Paraíba), Assu e Caicó (Rio Grande do Norte), Brasil.



Foi observado também que o maior número de indivíduos predomina nas primeiras classes de DAP para a população de Assu e, na segunda classe para Caicó e Soledade.

Em seu estudo sobre relação de variáveis meteorológicas com o crescimento das árvores de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze (Araucariaceae), Zanon & Finger (2010) mostraram que a taxa de crescimento em circunferência do tronco observada nas árvores está diretamente relacionada com a temperatura e precipitação. Essa afirmação corrobora com os resultados encontrados, uma vez que as regiões de estudo apresentam altas temperaturas, baixos índices pluviométricos, ocasiona a falta de água no solo, resultando na restrição aos processos fisiológicos e resultando em árvores com menores classes de diâmetro.

Seleção de iniciadores ISSR

Dentre os 30 iniciadores ISSR testados (Tabela 2), apenas UBC 807 809, 810, 818, 824, 825, 827, 830, 840, 842, 851 e 862) amplificaram *loci*, múltiplos, com boa resolução e reprodutibilidade.

Tabela 2. Nome, sequência de nucleotídeos com suas e número de *loci* amplificados por 30 iniciadores ISSR usando amostras de DNA em bulk de *A. cearensis*.

| Iniciadores ISSR | Sequência de nucleotídeos (5' – 3') | Número total de <i>loci</i> |
|------------------|----------------------------------------|-----------------------------|
| MI | CAA (GA)5 | 0 |
| CHRIS | (CA)7 – YG | 0 |
| UBC 807 | (AG)8-T | 4 |
| UBC 808 | (AG)8-C | 0 |
| UBC 809 | (AG)8G | 4 |
| UBC 810 | (GA)8-T | 2 |
| UBC 813 | (CT)8-T | 0 |
| UBC 818 | (CA)8- G | 2 |
| UBC 821 | (GT)8-T | 0 |
| UBC 822 | (TC)8-A | 0 |
| UBC 824 | (CT)8-G | 2 |
| UBC 825 | (AC)8-T | 2 |
| UBC 826 | (AC)8C | 0 |
| UBC 827 | (AC)8G | 0 |
| UBC 829 | (TG)8-C | 0 |

| | | |
|---------|----------|---|
| UBC 830 | (TG)8-G | 2 |
| UBC 840 | (GA)8-YT | 2 |
| UBC 841 | (GA)8-YC | 0 |
| UBC 842 | (GA)8-YG | 4 |
| UBC 843 | (CT)8-RA | 0 |
| UBC 844 | (CT)8-RC | 0 |
| UBC 851 | (GT)8-YG | 4 |
| UBC 857 | (AC)8-YG | 0 |
| UBC 859 | (TG)8-RC | 0 |
| UBC 860 | (TG)8-RA | 0 |
| UBC 862 | (AGC)6 | 3 |
| UBC 873 | (GACA)4 | 0 |
| UBC 880 | (GGAGA)3 | 0 |
| UBC 881 | (GGGTG)3 | 0 |
| UBC 898 | (CA)6-RY | 0 |

R = purina (A ou G) e Y = pirimidina (C ou T)

A amplificação do DNA dos 64 indivíduos usando os doze iniciadores ISSR selecionados resultaram em 89 *loci* e 88 *loci* polimórficos, variando de 3 (UBC 824) a 12 (UBC 827), cujo a média foi 7 por iniciador (Tabela 3). A taxa de polimorfismo foi de 100% para os iniciadores 807, 809, 810, 824, 825, 827, 830, 840, 842, 851, 862 e de 83% para o iniciador UBC 818. Os valores de PIC variaram de 0,35 (UBC 862) a 0,49 (UBC 810, 842, 851), com uma média de 0,45, sendo classificados de acordo com a escala de Botstein et al. (1980) como moderadamente informativos (PIC=0,25 e 0,50).

Tabela 3. Número total de *loci*, número de *loci* polimórficos (P_L), taxa de polimorfismo (% P_L), valor do conteúdo de informação polimórfica (PIC) em cada um dos doze iniciadores ISSR para 64 indivíduos de *A. cearensis*.

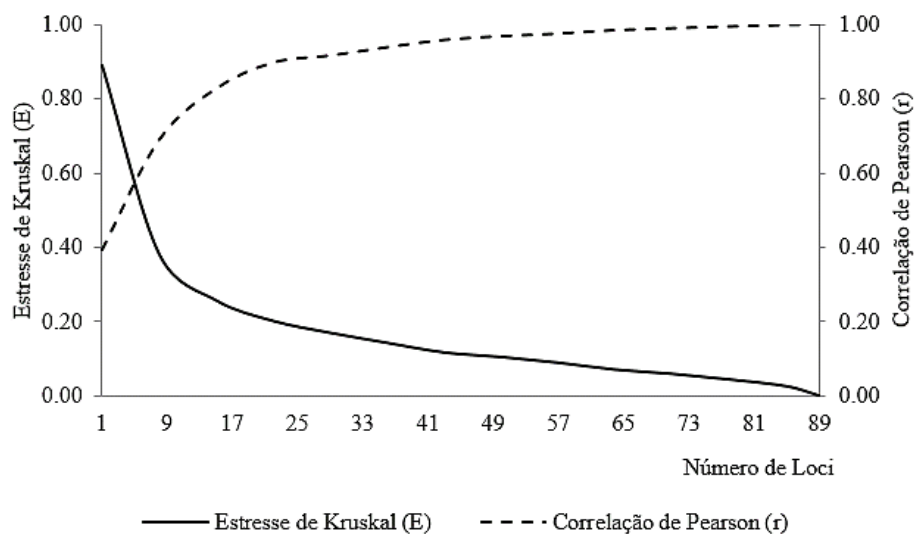
| Iniciadores ISSR | Sequência de nucleotídeos (5' – 3') | <i>loci</i> | P_L | % P_L | PIC |
|------------------|----------------------------------------|-------------|-------|---------|------|
| UBC 807 | (AG)8-T | 7 | 7 | 100 | 0,44 |
| UBC 809 | (AG)8G | 6 | 6 | 100 | 0,39 |
| UBC 810 | (GA)8-T | 8 | 8 | 100 | 0,49 |
| UBC 818 | (CA)8- G | 6 | 5 | 83 | 0,48 |
| UBC 824 | (CT)8-G | 3 | 3 | 100 | 0,41 |
| UBC 825 | (AC)8-T | 9 | 9 | 100 | 0,40 |

| | | | | | |
|---------|----------|----|----|-----|------|
| UBC 827 | (AC)8G | 12 | 12 | 100 | 0,47 |
| UBC 830 | (TG)8-G | 7 | 7 | 100 | 0,48 |
| UBC 840 | (GA)8-YT | 10 | 10 | 100 | 0,48 |
| UBC 842 | (GA)8-YG | 10 | 10 | 100 | 0,49 |
| UBC 851 | (GT)8-YG | 7 | 7 | 100 | 0,49 |
| UBC 862 | (AGC)6 | 4 | 4 | 100 | 0,35 |
| Média | | 7 | 7 | 99 | 0,45 |
| Total | | 89 | 88 | - | - |

Y = pirimidinas (C ou T).

A taxa de polimorfismo encontrada neste estudo foi superior aos encontrado em outros estudos de seleção de iniciadores ISSR como em *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth (52,7%), (ARAÚJO et al., 2016), *Caesalpinia férrea* Mart. (75%) (SILVA et al., 2017) *Plathyenia reticulata* Benth (65, 88%), (SOUZA et al., 2018), *Stylosanthes scabra* (95%) (COSTA et al., 2019) e *Pityrocarpa moniliformis* Benth. (82%) (FELIX et al., 2020). Isso demonstra que o conjunto de iniciadores selecionados são capazes de detectar polimorfismo genético em *A. cearensis*, pois a reamostragem usando 89 *loci* gerou coeficiente de correlação de Pearson ($r = 0,99$; $p < 0,05$) e baixo o valor de estresse ($E = 0,04$). Como o número de *loci* necessários para estimativas de alta precisão apresentam valores menores que 0,05 para o estresse e próximos de 1,0 para os valores de correlação (KRUSKAL, 1964), assume-se que o número de *loci* gerados pelo conjunto de iniciadores (89 *loci*) pode ser considerado suficiente para estudos de diversidade genética na espécie alvo deste estudo (Figura 3).

Figura 3. Valores da correlação de Pearson r e estresse de Kruskal (E) em função do número de *loci* ISSR usados para estimar a diversidade genética de 64 indivíduos de *A. cearensis*.



Diversidade genética

O índice de diversidade de Nei (He) e índice de Shannon (I) mostraram valores baixos para população de Caicó ($He = 0,152$ e $0,232$) e maior diversidade para Assu ($He = 0,350$ e $I = 0,350$) (Tabela 4), pois, quanto menor o valor observado para este índice, menor a diversidade da população (VIEIRA et al., 2015; LOPES et al., 2020). Porém, ao considerar os índices de diversidade entre populações verificou-se valores superiores para $He = 0,36 (\pm 0,135)$ e o (I) foi de $0,54 (\pm 0,16)$. Os valores encontrados no presente trabalho foram informativos e satisfatórios para estudos de diversidade genética. semelhantes aos resultados obtidos em pesquisas outras espécies florestais pertencentes à mesma família (Fabaceae) (DUARTE et al., 2018; FÉLIX et al., 2020; ARAÚJO et al., 2020; SILVA et al., 2021).

Tabela 4. Índice de diversidade genética de Nei (He), índice de Shannon (I), heterozigosidade total (H_t), diferenciação genética (G_{ST}) e fluxo gênico histórico (N_m) em cada um dos doze iniciadores ISSR para 64 indivíduos de *A. cearensis* provenientes de Soledade (Paraíba), Assu e Caicó (Rio Grande do Norte), Brasil.

| Índices de Diversidade Genética | Caicó | Soledade | Assu | Total |
|---------------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| Índice de diversidade genética de Nei | $0,152 \pm 0,185$ | $0,225 \pm 0,1963$ | $0,240 \pm 0,219$ | $0,364 \pm 0,135$ |
| Índice de Shannon | $0,232 \pm 0,270$ | $0,338 \pm 0,279$ | $0,350 \pm 0,305$ | $0,539 \pm 0,160$ |
| Heterozigosidade total | - | - | - | $0,371 \pm 0,015$ |
| Diferenciação genética | - | - | - | 0,447 |
| Fluxo gênico histórico | - | - | - | 0,620 |

Conforme exposto, a diversidade genética foi maior entre as populações do que dentro delas, esse comportamento pode ser explicado devido à perda de alelos por deriva genética, por se tratar de uma espécie em risco de extinção (SOUZA & LOVATO, 2010). Sendo assim, a avaliação da diversidade genética é essencial para o melhoramento e conservação das espécies, uma vez que a redução da diversidade genética torna uma espécie mais suscetível às mudanças ambientais, reduzindo suas chances de sobrevivência ao longo do tempo (SPIGLER et al., 2017).

A heterozigosidade para as populações apresentou valor $0,371 \pm 0,015$. Esse resultado sugere que há variabilidade genética razoável para manutenção de suas populações. O coeficiente de diferenciação genética entre áreas populacionais (G_{ST}) foi de 0,447. Esse índice tem como objetivo fornecer uma medida de diferenciação que varia no mesmo intervalo 0 a 1, permitindo comparação entre *loci* com diferentes níveis de variação genética (HEDRICK, 2005), ou seja,

quanto mais próximo de zero, menor será a frequência de alelos para as populações. Dessa forma, o valor de G_{ST} encontrado no presente estudo apresenta uma forte estruturação encontrada para o conjunto de populações, podendo indicar que o fluxo gênico histórico entre elas foi muito baixo (BITTENCOURT et al., 2019), podendo ser explicado também pela distância geográfica existente entre elas.

O fluxo gênico na população foi de apenas 0,620 indivíduos, esses valores são baixos, sendo comumente encontrado em espécies ameaçadas de extinção porque a distribuição e o tamanho da população dessas espécies costumam ser drasticamente reduzidos (YU et al., 2015) pelo resultado da interação de diferentes processos, como fragmentação e isolamento populacional (NYBOM & BARTISH, 2000).

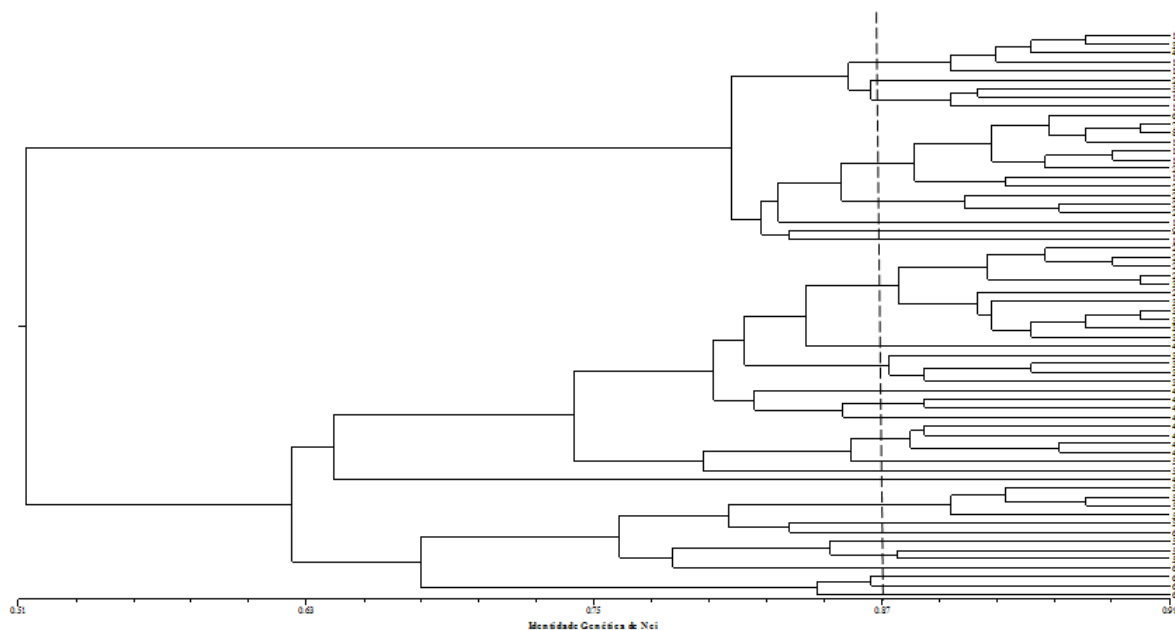
A paisagem atual das regiões estudadas é composta por pequenos fragmentos e indivíduos isolados em parcelas em que ao seu entorno um dia ocorreu cortes de árvores para abertura de estradas, áreas para pastagem e plantação para cultivo de milho e palma forrageira. Essas atividades antropogênicas têm promovido a redução de áreas contínuas de vegetação levando espécies aos status de ameaçadas em extinção. Considerando a alta fragmentação do bioma Caatinga, o fluxo gênico também pode ser limitado pela distribuição geográfica (SILVA et al., 2021), uma vez que pode influenciar na redução de dispersão de grãos de pólen entre as populações, pois dificulta a polinização de insetos em longas distâncias, tendo em vista que *A. cearensis* tem como visitantes florais as *Lepidoptera* spp. (borboletas e mariposas) e *Apis melífera* (KIILL, 2010).

Assim, é fundamental a conservação das três populações para que o máximo de variabilidade genética seja mantida, uma vez que duas dessas populações procedem de áreas particulares, estando susceptíveis a serem desmatadas e substituídas por espécies agrônômicas ou para construções de estradas, por isso a importância também de conscientizar os proprietários sobre a conservação da espécie. Além disso, espera-se que este estudo subsidie estratégias de seleção de árvores matrizes visando a produção de sementes, para que a diversidade genética de outras espécies ameaçadas seja garantida.

A partir do agrupamento da identidade genética de Nei, observa-se a formação de grupos com 0.51 de identidade genética. No dendrograma (Figura 4), a partir de um ponto de corte de 0.87 de identidade genética de Nei é possível identificar 28 grupos (G1 – 64; G2 – 63; G3 – 62; G4 – 61; G5 – 58, 57; G6 – 56; G7 – 60; G8 – 59; G9 – 55; G10 – 54, 53, 52; G11 – 41; G12 – 51; G13 – 50; G14 – 49, 48, 47, 45; G15 – 44; G16 – 46, 43; G18 – 39, 38, 37, 36; G19 – 40; G20 – 35, 34, 33, 32, 31, 28, 30, 29, 27, 26, 25; G21 – 12; G22 – 9; G23 – 13; G24 – 24, 23, 22; G25 – 20, 18, 21, 17, 16, 10, 8, 7, 6; G26 – 19, 11, 5, 2, 14, 15, 4, 3, 1; G27 – 2; G28 – 14, 15, 4, 3, 2, 1. Os pares de indivíduos que apresentaram maior identidade genética foram o 7 e 8 (0.98); 29 e 30 (0.97); 32 e 33 (0.97) os quais foram agrupados em clusters menores pela

análise de agrupamento pelo método UPGMA, sugerindo que esses indivíduos apresentam maior semelhança genética entre si (Figura 4).

Figura 4. Dendrograma da identidade genética de Nei de 64 indivíduos de *A. cearensis* provenientes de Soledade (Paraíba), Assu e Caicó (Rio Grande do Norte), Brasil.



A utilização dos iniciadores moleculares ISSR são úteis para caracterização genética intra e interpoblacional quando se deseja selecionar árvores matrizes (PIMENTA, 2021). Inclusive, é indicado que essa escolha dos indivíduos deve ser feita fundamentado na maior divergência genética, principalmente para coleta de sementes, uma vez que são essenciais para a formação de lotes de sementes com maior variabilidade genética (BELARMINO et al., 2017). Sendo uma estratégia para garantir a preservação da espécie, da dinâmica evolutiva de populações naturais e fomentar programas de restauração ecológica (PIMENTA, 2021). Além disso, foi possível observar que o agrupamento gerado a partir da identidade genética de Nei corroboram com os dados de diversidade genética apresentados neste estudo.

Diante do exposto, a população em estudo possui árvores com potencial para serem eleitas como árvores matrizes por apresentarem diversidade genética satisfatória entre as populações, fundamentada nos valores de identidade de Nei, índice de Shannon, heterozigidade total, diferenciação genética, fluxo gênico histórico e pelo método UPGMA. É importante ressaltar que este estudo foi baseado em três populações de *A. cearensis* no bioma Caatinga, sendo necessário estudos em outras áreas de ocorrência naturais, visto que a espécie não possui ampla distribuição geográfica e apresenta-se ameaçada de extinção.

Esses resultados podem auxiliar na elaboração de efetivas medidas de conservação genética dessas populações e apoiar a formação de áreas de coleta e implantação de pomares de sementes florestais para fins ambientais.

CONCLUSÕES

Os iniciadores ISSR UBC 807, 809, 810, 818, 824, 825, 827, 830, 840, 842, 851 e 862 podem ser usados para quantificar a diversidade genética de *A. cearensis*.

A partir do grupamento da identidade genética de Nei de um ponto de 0,87 é possível identificar a formação de 28 grupos bem definidos.

Os dados genéticos apoiam que as populações possuem diversidade genética moderada, alta diferenciação genética e estão espacialmente isoladas, podendo ser usadas na formação de áreas de coletas e de pomares de sementes florestais.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro para realização desse projeto de pesquisa (Projeto Universal 437955/2018-4). O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Ao Laboratório de Genética e Melhoramento Florestal (LABGen) da UFRN, pela infraestrutura e apoio fornecido. Os autores agradecem ao ICMBio (Flona de Açú), à Dona Izabel Amélia de Araújo (Sítio Manoel de Sousa), ao Aubeny Arruda (Fazenda Açude) e a João Ovídio e Nazaré Ovídio (Sítio Bom Jesus), pela concessão deste estudo em suas propriedades.

REFERÊNCIAS

Anderson, A.; Churchill, G.A.; Autrique, J.E.; Tanksley, S.D.; Sorrells, M.E. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome*, v.36, n.1, p.181-186, 1993. <https://doi.org/10.1139/g93-024>.

Andrade, L.A.; Leite, I.M.; Tiburtino, U.; Barbosa, M.R. Análise da cobertura de duas fitofisionomias de caatinga, com diferentes históricos de uso, no município de São João do

Cariri, Estado da Paraíba. Revista Cerne, v.11, n.3, p.253-262, 2005. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=74411305>. 22 jan. 2021.

Araújo, F.D.S.; Felix, F.C.; Ferrari, C.D.S.; Vieira, F.D.A.; Pacheco, M.V. Seed quality and genetic diversity of a cultivated population of *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. Revista Caatinga, v.33, p.1000-1006, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n415rc>.

Araújo, F.S.; Felix, F.C.; Silva, R.A.R.; Correia, L.A.S.; Medeiros, J.A.D.; Ferrari, C.S.; Vieira, F.A.; Pacheco, M.V.; Valença, R.L. Análise genética e fenotípica em progênies de polinização livre de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth.: implicações para melhoramento genético. Research, Society and Development, v.10, n.3, p.1-9, 2021.

Araújo, F.S.; Pacheco, M.V.; Vieira, F.A.; ferrari, C.S.; Felix, F.C.; Chagas, K.P.T. ISSR molecular markers for the study of the genetic diversity of *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. Idesia, v.34, n.3, p.47-52, 2016. Disponível em: [https://doi.org/10.4067 / S0718-34292016000300007](https://doi.org/10.4067/S0718-34292016000300007).

Araújo, M.M.; Navroski, M.C.; Schorn, L.A. Produção de sementes e mudas: um enfoque à silvicultura. Santa Maria: UFSM, 2018, 448 p.

Ayres, M.; Ayres-Júnior, M.; Ayres, D.L.; Santos, A.D. BioEstat 5.0: aplicações estatísticas na área das ciências biológicas e biomédicas. Tefé/AM: Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, 2007. 364p.

Belarmino, K.S.; Rego, M.M.; Bruno, R.L.A.; Medeiros, G.D.A.; Andrade, A.P.; Rego, E.R. Genetic diversity in a *Poincianella pyramidalis* (Tul.) LP Queiroz population assessed by RAPD molecular markers. Genetics and Molecular Research, v.16, n.3, 2017. <https://doi.org/10.4238/gmr16039663>.

Bittencourt, R.; Steiner, F.; Sant'Anna, C.S.; Montagna, T.; Fernandes, C.D.; Silva, F.A.L.S.D.; Reis, M.S.D. Diversidade e estrutura genética de populações de *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl. na floresta ombrófila mista em Santa Catarina. Ciência Florestal, v. 29, n.1, p. 63-74, 2019. <https://doi.org/10.5902/1980509844449>.

Botstein, D.; White, R.L.; Skolnick, M.; Davis, R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American journal of human genetics*, v.32, n.3, p.314, 1980. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1686077/>. 30 jul. 2021

Caixeta, E.T.; Borém, A. Marcadores moleculares. Viçosa-MG: UFV, 2016, 384 p.

Costa, C.C.D.A.; Camacho, R.G.V.; Macedo, I.D.D.; Silva, P.C.M.D. Análise comparativa da produção de serapilheira em fragmentos arbóreos e arbustivos em área de caatinga na FLONA de Açu-RN. *Revista Árvore*, v. 34, n.2, p. 259-265, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622010000200008>.

Costa, D.F.D.; Vieira, F.D.A.; Fajardo, C.G.; Chagas, K.P.T.D. Diversidade genética e seleção de iniciadores ISSR em uma população natural de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.37, p.970-976, 2015. <https://doi.org/10.1590/0100-2945-246/14>.

Costa, J.C.; Fracetto, G.G.M.; Fracetto, F.J.C.; Souza, T.C.; Santos, M.V.F.; Junior, M.L. Genetic diversity in natural populations of *Stylosanthes scabra* Fabaceae using ISSR markers. *Genetics and Molecular Research*, v.18, n.2, 2019. <http://dx.doi.org/10.4238/gmr18219>.

Cruz, C.D. Programa GENES: versão Windows. Editora UFV, Viçosa, 2001.

Doyle, J.J.; Doyle, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, v.12, n.1, p.13-15, 1987. <https://doi.org/10.2307/2419362>.

Duarte, M.M.; Nogueira, A.C.; Vieira, E.S.N. Diversity and spatial genetic structure of natural populations of *Ziziphus joazeiro* Mart. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 13, n. 4, p. 16-16, 2018. DOI:10.5039/agraria.v13i4a5573.

Felix, F.C.; Chagas, K.P.T.D.; Ferrari, C.D.S.; Vieira, F.D.A.; Pacheco, M.V. Applications of ISSR markers in studies of genetic diversity of *Pityrocarpa moniliformis*. *Revista Caatinga*, v. 33, n.4, p.1017-1024, 2020. <https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n417rc>.

Gonçalves, L.O.; Pinheiro, J.B.; Zucchi, M.I.; Silva-Mann, R. Caracterização genética de mulungu (*Erythrina velutina* Willd.) em áreas de baixa ocorrência. *Revista Ciência Agronômica*, v.45, n.2, p.290-298, 2014. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902014000200009>.

Grover, A.; Sharma, P.C. Development and use of molecular markers: past and present. *Critical Reviews in Biotechnology*. v.36, n.2, p.290-302, 2016. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.959891>.

Guedes, R.S.; Alves, E.U.; Gonçalves, E.P.; Viana, J.S.; Moura, M.F.; Costa, E. G. Emergência e vigor de plântulas de *Amburana cearensis* (Allemão) AC Smith em função da posição e da profundidade de semeadura. *Semina: Ciências Agrárias*, v.31, n.4, p.843-850, 2010. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445744098004>. 20 out. 2020.

Hammer, O.; Harper, A.T.D. *Paleontological data analysis*. Australia: Blackwell publishing, 2008. 368p.

Hedrick, F.A. Standardized genetic differentiation measured. *Evolution*, v. 59, n.8, p.1633-1638, 2005. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2005.tb01814.x>.

ICMBIO. Plano de Manejo: Floresta Nacional de Açú. ICMBio/COMAN/IDEMA, p.62, 2019. https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/planodemanejo/plano_de_manejo_flona_de_acu.pdf. 20 jul. 2021.

IUCN. *Amburana cearensis*. International Union for Conservation of Nature RED LIST, 2021. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.1998.RLTS.T32291A9687595.en>. 29 de jul. de 2021.

Kamada, T.; Picoli, E. A.T.; Alfenas, A.C.; Cruz, C.D.; Vieira, R.F.; Otoni, W.C. Diversidade genética de populações naturais de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen estimada por marcadores RAPD. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v.31, n.3, p.403-409, 2009. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v31i3.548>.

Kiill, L.H.P. Plantas da caatinga ameaçadas de extinção e sua associação com polinizadores. Congresso (ALICE). 2 Semana dos polinizadores. Anais. Petrolina: Embrapa Semiárido. v.1, p.59-71, 2010. <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/865240>. 15 fev. 2020.

Köppen, W.; Geiger, R. *Klimate der Erde*. Gotha: Verlag Justus Perthes. Wall-map 150 x 200 cm. 1948.

Kruskal, J.B. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a no metric hypothesis. *Psychometrika*, v.29, n.1, p.1-27, 1964. <https://doi.org/10.1007/BF02289565>.

Lima, C.R.D.; Bruno, R.D.L.A.; Andrade, A.P.D.; Pacheco, M.V.; Quirino, Z.G.M., Silva, K. D.R.G.D.; Belarmino, K.D.S. Phenology of *Poincianella pyramidalis* (Tul.) LP Queiroz and its relationship with the temporal distribution of rainfall in the Brazilian semi-arid region. *Ciência Florestal*, v.28, n.3, p.1035-1048, 2018. <https://doi.org/10.5902/1980509833387>.

Lopes, J.S.; Costa, M.R.J.; Arriel, D.A.A. Genetic diversity of potential mother trees of *Myracrodruon urundeuva* Allemão in a remnant population from Brazilian Cerrado using ISSR. *Advances in Forestry Science*, v.7, n.2, p.1017-1024, 2020. <http://dx.doi.org/10.34062/afs.v6i2.5621>.

Lucena, R.L.; Ferreira, A.M.; Araújo Ferreira, H.F.P.; Steinke, E.T. Variabilidade climática no município de Caicó/RN: secas e chuvas num arquétipo do clima semiárido do Nordeste brasileiro. *CLIMEP-Climatologia e Estudos da Paisagem*, v.8, n.2, p.67-89, 2013. <https://www.periodicos.rc.biblioteca.unesp.br/index.php/climatologia/article/view/8117>.

Nei, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, v. 89, n. 3, p. 583-590, 1978.

Ng, W.L.; Tan, S.G. Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers: are we doing it right. *ASM Sci J*, v.9, n.1, p.30-39, 2015. https://www.researchgate.net/publication/283256624_InterSimple_Sequence_Repeat_ISSR_markers_Are_we_doing_it_right. 11 fev. 2021.

Nybom, H.; Bartish, I.V. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. *Perspectives in plant ecology, evolution and systematics*, v.3, n.2, p.93-114, 2000. <https://doi.org/10.1078/1433-8319-00006>.

Pareyn, F.G.C.; Araújo, E.L.; Drumond, M.A.; Miranda, J.A.C.; Souza, C.A.; Silva, A.P.S.; Brazolin, S.; Silva, A.P.S.; Marques, K.K.M. Espécies Madeireiras Nativas da Região Nordeste: *Amburana cearensis*. In: Coradin, L.; Camillo, J.; Pareyn, F. G. C. de (Org). Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial plantas para o futuro: Região Nordeste. Brasília – DF: MMA, 2018, p.732-739.

Pimenta, J.M.A. Como selecionar indivíduos de *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex. DC.) para subsidiar áreas de coleta de sementes na Caatinga? Macaíba: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2021. 67p. Dissertação de Mestrado.

Rossi, F.S.; Rossi, A.A.B.; Dardengo, J.D.F.E.; Brauwiers, L.R.; SILVA, M.L.; SEBBENN, A.M. Diversidade genética em populações naturais de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) com uso de marcadores ISSR. Scientia Forestalis, v.42, n.104, p.631-639, 2014. <http://www.bibliotecaflorestal.ufv.br:80/handle/123456789/15386>. 13 mar. 2021.

Santiago, W.D.; Cardoso, M.G.; Santiago, J.A.; Gomes, M.S.; Rodrigues, L.M.A.; Brandão, R.M.; Cardoso, R.R.; D'Ávila, G.B.; Silva, B.L.; Caetano, A.R.S. Comparison and quantification of the development of phenolic compounds during the aging of cachaça in oak (*Quercus* sp) and amburana (*Amburana Cearensis*) barrels. American Journal of Plant Sciences, v.5, n.21, p.3140-3150, 2014. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2014.521330>.

Sebbenn, A.M. Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas. Revista do Instituto Florestal São Paulo. v.14, n.2, p.115-132,2002.

https://www.researchgate.net/publication/256652269_SEBBENN_AM_Numero_de_arvores_matrizes_e_conceitos_geneticos_na_coleta_de_sementes_para_reflorestamentos_com_especies_nativas_Revista_do_Instituto_Florestal_v_14_n_2_p_115-132_2002. 27 fev 2020.

Silva, G.L.D.; Zandavalli, R.B.; Pereira, D.D.S.; Sousa, G.G.D. Biometria e emergência de *Amburana cearensis* (Allemão) AC Smith em função da coloração do fruto. Ciência Florestal, v.23, n.4, p.635-642, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/1980509812347>.

Silva, J.H.O.; Viana, J.B.V.; Araujo Neto, R.B.; Valente, S.D.S.; Lima, P.D.C. Análise da diversidade genética dos acessos de *Caesalpinia ferrea* por meio de marcadores ISSR. In

Embrapa Meio-Norte-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS NATURAIS DO SEMIÁRIDO, Fortaleza. Manejo de bacias hidrográficas em regiões semiáridas: potencialização da produção de água. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2017. DOI: 10.18068/IIISBRNS2017.crn823.

Silva, L. S.; Simplício, R. R.; Arruda, S. R.; Pereira, D. G.; Castro, M. M. S.; Waldschmidt, A. M. A. Genetic Diversity in *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir.: A Multipurpose Plant Genetic Resource of Semiarid Brazil. *Journal of Agricultural Science*, v.13, n.5, p.113-124, 2021. DOI:10.5539/jas.v13n5p113.

Souza, H. A. V.; Lovato, M. B. Genetic diversity and structure of the critically endangered tree *Dimorphandra wilsonii* and of the widespread in the Brazilian Cerrado *Dimorphandra mollis*: implications for conservation. *Biochemical Systematics and Ecology*, v.38, n.1, p.49-56, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2009.12.038>.

Souza, L.C.; Silva, A.L.J; Miranda, F.D.; Souza, M.C.; Horn Kunz, S.; Pereira, A. G. Validação do marcador molecular ISSR para detecção de diversidade genética em *Plathymenia reticulata* Benth. *Brazilian Journal of Agricultural Sciences/Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.13, n.1, p.1-6, 2018. <https://doi.org/10.5039/agraria.v13i1a5491>.

Spigler, R.B.; Theodorou, K.; Chang, S.M. Inbreeding depression and drift load in small populations at demographic disequilibrium. *Evolution*, v.71, n.1, p.81-94, 2017. DOI:10.1111/evo.13103.

Vieira, F.A.; Sousa, R.F.; Silva, R.A.R., Fajardo, C.G.; Molina, W.F. Diversidade genética de *Copernicia prunifera* com o uso de marcadores moleculares ISSR. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.10, n.4, p.525-531, 2015. DOI:10.5039/agraria.v10i4a5040.

Xiang, L.; Li, X.L.; Wang, X.S.; Yang, J.; LV, K.; Xiong, Z.Q.; Chen, F.Q.; Huangd, C.M. Genetic diversity and population structure of *Distylium chinense* revealed by ISSR and SRAP analysis in the three gorges reservoir region of the Yangtze River, China. *Global Ecology and Conservation*, v. 21, p.1-10, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00805>.

Yeh, F.C.; Yang, R.C.; Boyle, T.B.J.; Ye, Z.H.; Mao, J.X. Pop-gene, the user-friendly shareware for population genetic analysis molecular biology and biotechnology center. Edmonton: Molecular Biology and Biotechnology Center; University of Alberta, 1997.

Yu, J.; Wang, Y.; Peng, L.; Ru, M.; Liang, Z.S. Genetic diversity and population structure of *Eucommia ulmoides* Oliver, an endangered medicinal plant in China. Genet. Mol. Res, v.14, n.1, p.2471-2483, 2015. <https://doi.org/10.4238/2015.March.30.5>.

Zanon, M.L.B.; Finger, C.A.G. Relação de variáveis meteorológicas com o crescimento das árvores de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze em povoamentos implantados. Ciência Florestal, v.20, n.3, p.467-476, 2010. <https://doi.org/10.5902/198050982061>.

Anexos



ANEXO 1 – NORMAS DA REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DOS ARTIGOS DOS CAPÍTULOS 1 e 2

DIRETRIZES PARA AUTORES

Objetivo e Polícia Editorial

A Revista Brasileira de Ciências Agrárias (RBCA) é editada pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) com o objetivo de divulgar artigos científicos, para o desenvolvimento científico das diferentes áreas das Ciências Agrárias. As áreas contempladas são: Agronomia, Engenharia Agrícola, Engenharia Florestal, Engenharia de Pesca e Aqüicultura, Medicina Veterinária e Zootecnia. Os artigos submetidos à avaliação devem ser originais e inéditos, sendo vetada a submissão simultânea em outros periódicos. A reprodução de artigos é permitida sempre que seja citada explicitamente a fonte.

Forma e preparação de manuscritos

O trabalho submetido à publicação deverá ser cadastrado no portal da revista (<http://www.agraria.pro.br>). O cadastro deverá ser preenchido apenas pelo autor correspondente que se responsabilizará pelo artigo em nome dos demais autores. Só serão aceitos trabalhos depois de revistos e aprovados pela Comissão Editorial, e que não foram publicados ou submetidos em publicação em outro veículo. Excetuam-se, nesta limitação, os apresentados em congressos, em forma de resumo. Os trabalhos subdivididos em partes 1, 2..., devem ser enviados juntos, pois serão submetidos aos mesmos revisores. Solicita-se observar as seguintes instruções para o preparo dos artigos.

Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente deve apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.

Composição sequencial do artigo

- a. Título: no máximo com 15 palavras, em que apenas a primeira letra da primeira palavra deve ser maiúscula.
- b. Os artigos deverão ser compostos por, no máximo, 6 (seis) autores;
- c. Resumo: no máximo com 15 linhas;
- d. Palavras-chave: no mínimo três e no máximo cinco, não constantes no Título;
- e. Título em inglês no máximo com 15 palavras, ressaltando-se que só a primeira letra

- da primeira palavra deve ser maiúscula;
- f. Abstract: no máximo com 15 linhas, devendo ser tradução fiel do Resumo;
- g. Key words: no mínimo três e no máximo cinco;
- h. Introdução: destacar a relevância do artigo, inclusive através de revisão de literatura;
- i. Material e Métodos;
- j. Resultados e Discussão;
- k. Conclusões devem ser escritas de forma sucinta, isto é, sem comentários nem explicações adicionais, baseando-se nos objetivos da pesquisa;
- l. Agradecimentos (facultativo);
- m. Literatura Citada.

Observação: Quando o artigo for escrito em inglês, o título, resumo e palavras-chave deverão também constar, respectivamente, em português ou espanhol, mas com a sequência alterada, vindo primeiro no idioma principal.

Edição do texto

- a. Idioma: Português, Inglês e Espanhol;
- b. Processador: Word for Windows;
- c. Texto: fonte Times New Roman, tamanho 12. Não deverá existir no texto palavras em negrito;
- d. Espaçamento: duplo entre o título, resumo e abstract; simples entre item e subitem; e no texto, espaço 1,5;
- e. Parágrafo: 0,5 cm;
- f. Página: Papel A4, orientação retrato, margens superior e inferior de 2,5 cm, e esquerda e direita de 3,0 cm, no máximo de 20 páginas não numeradas;
- g. Todos os itens em letras maiúsculas, em negrito e centralizados, exceto Resumo, Abstract, Palavras-chave e Key words, que deverão ser alinhados à esquerda e apenas as primeiras letras maiúsculas. Os subitens deverão ser alinhados à esquerda, em negrito e somente a primeira letra maiúscula;
- h. As grandezas devem ser expressas no SI (Sistema Internacional) e a terminologia científica deve seguir as convenções internacionais de cada área em questão;

i. Tabelas e Figuras (gráficos, mapas, imagens, fotografias, desenhos)

- Títulos de tabelas e figuras deverão ser escritos em fonte Times New Roman, estilo normal e tamanho 9;

- As tabelas e figuras devem apresentar larguras de 9 ou 18 cm, com texto em fonte Times New Roman, tamanho 9, e ser inseridas logo abaixo do parágrafo onde foram citadas pela primeira vez. Exemplo de citações no texto: Figura 1; Tabela 1. Tabelas e figuras que possuem praticamente o mesmo título deverá ser agrupado em uma tabela ou figura criando-se, no entanto, um indicador de diferenciação. A letra indicadora de cada sub-figura numa figura agrupada deve ser maiúscula e com um ponto (exemplo: A.), e posicionada ao lado esquerdo superior da figura e fora dela. As figuras agrupadas devem ser citadas no texto da seguinte forma: Figura 1A; Figura 1B; Figura 1C.

- As tabelas não devem ter tracejado vertical e o mínimo de tracejado horizontal. Exemplo do título, o qual deve ficar acima: Tabela 1. Estações do INMET selecionadas (sem ponto no final). Em tabelas que apresentam a comparação de médias, mediante análise estatística, deverá existir um espaço entre o valor numérico (média) e a letra. As unidades deverão estar entre parêntesis.

- As figuras não devem ter bordadura e suas curvas (no caso de gráficos) deverão ter espessura de 0,5 pt, e ser diferenciadas através de marcadores de legenda diversos e nunca através de cores distintas. Exemplo do título, o qual deve ficar abaixo: Figura 1. Perda acumulada de solo em função do tempo de aplicação da chuva simulada (sem ponto no final). Para não se tornar redundante, as figuras não devem ter dados constantes em tabelas. Fotografias ou outros tipos de figuras deverão ser escaneadas com 300 dpi e inseridas no texto. O(s) autor(es) deverá(ão) primar pela qualidade de resolução das figuras, tendo em vista uma boa reprodução gráfica. As unidades nos eixos das figuras devem estar entre parêntesis, mas, sem separação do título por vírgula.

Exemplos de citações no texto

a. Quando a citação possuir apenas um autor: ... Freire (2007) ou ... (Freire, 2007).

b. Quando possuir dois autores: ... Freire & Nascimento (2007), ou ... (Freire & Nascimento, 2007).

c. Quando possuir mais de dois autores: Freire et al. (2007), ou (Freire et al., 2007).

Literatura citada

O artigo deve ter, preferencialmente, no máximo 25 citações bibliográficas, sendo a maioria em periódicos recentes (últimos cinco anos).

As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

As referências citadas no texto deverão ser dispostas em ordem alfabética pelo sobrenome do primeiro autor e conter os nomes de todos os autores, separados por ponto e vírgula. As citações devem ser, preferencialmente, de publicações em periódicos, as quais deverão ser apresentadas conforme os exemplos a seguir:

a. Livros

Mello, A.C.L. de; Vêras, A.S.C.; Lira, M. de A.; Santos, M.V.F. dos; Dubeux Júnior, J.C.B; Freitas, E.V. de; Cunha, M.V. da . Pastagens de capim-elefante: produção intensiva de leite e carne. Recife: Instituto Agrônômico de Pernambuco, 2008. 49p.

b. Capítulo de livros

Serafim, C.F.S.; Hazin, F.H.V. O ecossistema costeiro. In: Serafim, C.F.S.; Chaves, P.T. de (Org.). O mar no espaço geográfico brasileiro. Brasília- DF: Ministério da Educação, 2006. v. 8, p. 101-116.

c. Revistas

Sempre que possível o autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers).

Quando o artigo tiver a url.

Oliveira, A. B. de; Medeiros Filho, S. Influência de tratamentos pré-germinativos, temperatura e luminosidade na germinação de sementes de leucena, cv. Cunningham. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v.7, n.4, p.268-274, 2007. <<http://agraria.pro.br/sistema/index.php?journal=agraria&page=article&op=view&path%5B%5D=183&path%5B%5D=104>>. 29 Dez. 2012.

Quando o artigo tiver DOI.

Costa, R.B. da; Almeida, E.V.; Kaiser, P.; Azevedo, L.P.A. de; Tyszka Martinez, D. Tsukamoto Filho, A. de A. Avaliação genética em progênies de Myracrodruon urundeuva Fr. All. na região do Pantanal, estado do Mato Grosso. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v.6, n.4, p.685-693, 2011. <<http://dx.doi.org/10.5039/agraria.v6i4a1277>>.

d. Dissertações e teses

Bandeira, D.A. Características sanitárias e de produção da caprinocultura nas microrregiões do Cariri do estado da Paraíba. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005. 116p. Tese Doutorado.

e. WWW (World Wide Web) e FTP (File Transfer Protocol)

Burka, L.P. A hipertext history of multi-user dimensions; MUD history. <<http://www.aka.org.cn/Magazine/Aka4/interhisE4.html>>. 29 Nov. 2012.

Não serão aceitas citações bibliográficas do tipo apud ou citado por, ou seja, as citações deverão ser apenas das referências originais.

Citações de artigos no prelo, comunicação pessoal, folder, apostila, monografia, trabalho de conclusão de curso de graduação, relatório técnico e trabalhos em congressos, não são aceitos na elaboração dos artigos.

Outras informações sobre a normatização de artigos

- 1) Os títulos das bibliografias listadas devem ter apenas a primeira letra da primeira palavra maiúscula, com exceção de nomes próprios. O título de eventos deverá ter apenas a primeira letra de cada palavra maiúscula;
- 2) O nome de cada autor deve ser por extenso apenas o primeiro nome e o último sobrenome, sendo apenas a primeira letra maiúscula;
- 3) Não colocar ponto no final de palavras-chave, key words e títulos de tabelas e figuras. Todas as letras das palavras-chave devem ser minúsculas, incluindo a primeira letra da primeira palavra-chave;
- 4) No Abstract, a casa decimal dos números deve ser indicada por ponto em vez de vírgula;
- 5) A Introdução deve ter, preferencialmente, no máximo 2 páginas. Não devem existir na Introdução equações, tabelas, figuras, e texto teórico sobre um determinado assunto;
- 6) Evitar parágrafos muito longos;

7) Não deverá existir itálico no texto, em equações, tabelas e figuras, exceto nos nomes científicos de animais e culturas agrícolas, assim como, nos títulos das tabelas e figuras escritos em inglês;

8) Não deverá existir negrito no texto, em equações, figuras e tabelas, exceto no título do artigo e nos seus itens e subitens;

9) Em figuras agrupadas, se o título dos eixos x e y forem iguais, deixar só um título centralizado;

10) Todas as letras de uma sigla devem ser maiúsculas; já o nome por extenso de uma instituição deve ter maiúscula apenas a primeira letra de cada nome;

11) Nos exemplos seguintes o formato correto é o que se encontra no lado direito da igualdade: 10 horas = 10 h; 32 minutos = 32 min; 5 l (litros) = 5 L; 45 ml = 45 mL; l/s = L.s⁻¹; 27°C = 27 oC; 0,14 m³/min/m = 0,14 m³.min⁻¹.m⁻¹; 100 g de peso/ave = 100 g de peso por ave; 2 toneladas = 2 t; mm/dia = mm.d⁻¹; 2x3 = 2 x 3 (deve ser separado); 45,2 - 61,5 = 45,2-61,5 (deve ser junto). A % é unidade que deve estar junta ao número (45%). Quando no texto existirem valores numéricos seguidos, colocar a unidade somente no último valor (Exs.: 20 e 40 m; 56,0, 82,5 e 90,2%). Quando for pertinente, deixar os valores numéricos com no máximo duas casas decimais;

12) No texto, quando se diz que um autor citou outro, deve-se usar apud em vez de citado por. Exemplo: Walker (2001) apud Azevedo (2005) em vez de Walker (2001) citado por Azevedo (2005). Recomendamos evitar essa forma de citação.

13) Na definição dos parâmetros e variáveis de uma equação, deverá existir um traço separando o símbolo de sua definição. A numeração de uma equação deve estar entre parêntesis e alinhada esquerda. Uma equação deve ser citada no texto conforme os seguintes exemplos: Eq. 1; Eq. 4.;

14) Quando o artigo for submetido não será mais permitida mudança de nome dos autores, seqüência de autores e quaisquer outras alterações que não sejam solicitadas pelo editor.

Procedimentos para encaminhamento dos artigos

O autor correspondente deve se cadastrar como autor e inserir o artigo no endereço <http://www.agraria.pro.br>.

O autor pode se comunicar com a Revista por meio do e-mail agrarias@prppg.ufrpe.br, editorgeral@agraria.pro.br ou secretaria@agraria.pro.br.