



Revista Brasileira de Ciências Agrárias

ISSN: 1981-1160

editorgeral@agraria.pro.br

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Brasil

Lira Júnior, José S. de; Musser, Rosimar dos S.; Lederman, Ildo E.; Martins, Luíza S. S.
Variabilidade entre genótipos de um banco de germoplasma de cajá-umbuzeiro (*Spondias spp.*) na
Zona da Mata de Pernambuco

Revista Brasileira de Ciências Agrárias, vol. 3, núm. 2, abril-junio, 2008, pp. 116-120
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Pernambuco, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=119017431004>

- ▶ Como citar este artigo
- ▶ Número completo
- ▶ Mais artigos
- ▶ Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe , Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

AGRÁRIA

Revista Brasileira de Ciências Agrárias
v.3, n.2, p.116-120, abr.-jun., 2008
Recife, PE, UFRPE. www.agraria.ufrpe.br
Protocolo 144 - 26/06/2007 • Aprovado em 12/05/2008

José S. de Lira Júnior²

Rosimar dos S. Musser³

Ildo E. Lederman²

Luíza S. S. Martins³

Variabilidade entre genótipos de um banco de germoplasma de cajá-umbuzeiro (*Spondias* spp.) na Zona da Mata de Pernambuco¹

RESUMO

O cajá-umbuzeiro é uma árvore frutífera de ocorrência espontânea no semi-árido nordestino; seus frutos são explorados apenas de forma extractivista. Utilizado quase que exclusivamente para o consumo *in natura*, apesar da ampla perspectiva de industrialização da polpa, a seleção de genótipos superiores depende da existência de variabilidade para as características agronômicas e também, de interesse agroindustrial. O objetivo com este trabalho foi estimar coeficientes de similaridade genética entre genótipos de cajá-umbuzeiro, através da técnica de eletroforese, analisando-se as isoenzimas esterase (EST), álcool desidrogenase (ADH), fosfatase ácida (ACP) e peroxidase (POX), extraídas de folhas jovens de 33 genótipos. O sistema EST apresentou maior polimorfismo isoenzimático, permitindo agrupar os genótipos em dois grupos principais, sendo um formado apenas pelo genótipo 6 e o outro grupo pelos demais genótipos. Os coeficientes calculados indicam alta similaridade genética para a maioria dos materiais estudados. As combinações genotípicas 2 x 6; 6 x 20; 6 x 24 e x 33 apresentaram os menores coeficientes de similaridade genética.

Palavras-chave: isoenzimas, eletroforese, seleção, melhoramento

Variability among genotypes of a 'cajá-umbuzeiro' (*Spondias* spp.) germoplasm bank in the Forest Zone of Pernambuco State

ABSTRACT

The 'cajá-umbu' is a fruit tree species belonging to the *Anacardiaceae* family which has spontaneous occurrence in the semi-arid region of Northeast Brazil. Its fruits are explored only by extractive forms and consumed mostly as fresh, although there are good perspectives of pulp industrialization. The selection of superior genotypes depends on the variability of existing agronomic characteristics and on agro-industrial interest. The objective of this paper was to estimate genetic similarity coefficients among 'cajá-umbuzeiro' genotypes through the electrophoresis technique. The isoenzymes esterase (EST), alcohol desidrogenase (ADH), acid phosphatase (ACP) and peroxidase (POX) were analyzed from young leaf extracts of 33 'cajá-umbu' genotypes. System EST presented a greater isoenzymatic polymorphism, which allowed arranging them in two main genotype groups: one formed by the genotype 6 and another group formed by the other genotypes. The calculated coefficients indicate high genetic similarity among the majority of the studied materials. The genotypic combinations 2 x 6; 6 x 20; 6 x 24 and 6 x 33 presented the smaller genetic similarity coefficients.

Key words: isoenzymes, electrophoresis, selection, breeding

²Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, Avenida General San Martin 1371, Bongi, Caixa Postal 1022, CEP: 50751, Recife, PE., (81) 2122-7334, lirajunior@ipa.br, ildo@ipa.br

³Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife, PE, CEP: 52171-900, (81) 3320-6200, russuer@ufrpe.br, luiza@ufrpe.br

INTRODUÇÃO

O cajá-umbuzeiro é uma árvore frutífera pertencente à família *Anacardiaceae* e de ocorrência espontânea no Semi-árido brasileiro (Silva Júnior et al., 2004). Seus frutos apresentam ampla perspectiva de aproveitamento agroindustrial porém é explorado apenas de forma extrativista para consumo da polpa ao natural e/ou na forma de suco, picolé e sorvete (Lima et al., 2002).

O gênero *Spondias* comporta as espécies *Spondias tuberosa* Arr. Cam. (umbuzeiro), *S. mombim* L. (cajazeira), *S. purpurea* L. (cirgueleira), e *S. cytherea* Sonn. (cajaraneira) (Pires, 1990). Este gênero ainda engloba o cajá-umbuzeiro e a umbugueira, ambos denominados *Spondias* spp., em virtude de não apresentarem espécie botânica definida.

Em função da variação no formato, tamanho e coloração dos frutos e da consistência da polpa, o cajá-umbu também é chamado de umbu-cajá, dependendo da sua região de ocorrência; contudo, os trabalhos científicos publicados se referem aos mesmos como híbridos interespecíficos, originados a partir de possíveis cruzamentos naturais entre *S. mombim* L. e *S. tuberosa* Arr. Cam. (Silva Júnior et al., 2004; Lira Júnior et al., 2005).

A exploração racional de espécies rústicas e tolerantes ao estresse hídrico, como o cajá-umbuzeiro, pode ser uma das alternativas de diversificação para o agronegócio da fruticultura pernambucana, não só para a região semi-árida mas, também, para outras mesorregiões, em razão de sua adaptabilidade às diferentes condições climáticas.

A utilização de práticas agrícolas inadequadas, como a queima e o corte indiscriminados da vegetação nativa, para implantação de pastagens e/ou da produção de carvão como fonte energética, tem eliminado, gradativamente, várias espécies arbóreas, dentre elas genótipos de cajá-umbuzeiro, reduzindo seu patrimônio genético (Souza, 2001; Carvalho et al., 2002). Diante da importância do cajá-umbuzeiro como recurso genético, tornou-se necessário conservar o seu germoplasma remanescente, visando assegurar sua exploração racional e contínua disponibilidade às futuras gerações, com equilíbrio ambiental (Giacometti, 1993; Moraes et al., 1994).

No início da década 90 a Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA) realizou trabalhos de prospecção genética, em Pernambuco e em outros Estados do Nordeste, para a formação de um banco de germoplasma de cajá-umbuzeiro, visando à avaliação, caracterização e seleção de genótipos superiores para cultivo comercial. O material genético, composto de 33 genótipos, coletado nesta prospecção, foi implantado na Estação Experimental de Itambé, Zona da Mata Norte de Pernambuco, constituindo-se no primeiro Banco de Germoplasma de Cajá-umbuzeiro.

O sucesso de um programa de melhoramento depende, dentre outros fatores, da variabilidade existente entre e dentro de populações, cujas características desejáveis podem ser manipuladas através de hibridações ou então clonadas, para obtenção de genótipos superiores (Borém & Miranda, 2005; Bruckner, 2005). Entre as metodologias que podem ser utilizadas para estimar informações sobre a variabilidade e a rela-

ção filogenética entre germoplasmas, destaca-se a eletroforese de isoenzimas (Alfenas, 1998).

Objetivou-se com este trabalho, estimar coeficientes de similaridade genética entre genótipos de cajá-umbuzeiro do banco de germoplasma da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA).

MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se este trabalho a partir de genótipos de cajá-umbuzeiro do banco de germoplasma pertencente à Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, implantado no início dos anos 90 na Estação Experimental de Itambé ($7^{\circ} 24'50''$ de latitude Sul e $35^{\circ} 06'30''$ de longitude Oeste), localizada na Mesorregião da Mata Pernambucana e Microrregião da Mata Norte. O município de Itambé apresenta altitude média de 190 m, solo predominante classificado como Argissolo e a vegetação original do tipo floresta subcaducifólia; na classificação de Köppen, seu clima é do tipo As' (quente e úmido), a precipitação pluviométrica média anual é de 1200 mm, com meses mais chuvosos de abril a julho; temperatura média anual de é 24 °C e a umidade relativa média do ar de 80% (Jacomine et al., 1973; EMBRAPA, 1999).

O banco de germoplasma de cajá-umbuzeiro dispõe, atualmente, de 36 genótipos, coletados a partir de prospecções visitas às suas áreas de ocorrência espontânea, no Agreste e Sertão de Pernambuco, além do Ceará e Piauí, nas suas respectivas áreas de abrangência da Serra do Araripe. No ano de 2004, em plena fenofase de brotação foliar, foram coletadas amostras de folhas de mesmo estádio ontogenético, entre 33 genótipos, as quais foram devidamente acondicionadas em caixas de isopor e encaminhadas ao Laboratório de Genética Bioquímica e Seqüenciamento de DNA, da UFRPE. Segundo a metodologia proposta por Alfenas (1998), com algumas modificações, 300 mg de cada amostra foliar foram macerados em almofariz, sobre gelo, com 1,0 mL da seguinte solução extratora: 4,0 mL de tampão borato de lítio, pH 8,0; 36 mL de tampão tris-citrato, pH 8,3; 1,2 g de sacarose e 1,2 g de polivinilpirrolidona (PVP). Após a maceração, o material foi centrifugado a 4 °C, durante dez minutos, a 12000 rpm. O sobrante foi retirado e 10 µL de cada amostra foram aplicados nos poços dos géis de poliacrilamida a 7 %.

A migração eletroforética foi conduzida a 4 °C, a um potencial de 90 volts, até que a linha de frente atingisse 6,0 cm, em direção ao pólo positivo; nas cubas se usaram: tampão borato de lítio 0,2 M, pH 8,3, para esterase (EST), fosfatase ácida (ACP), álcool desidrogenase (ADH), e tampão Pouliot (18,54 g de ácido bórico; 2,0 g de hidróxido de sódio; água destilada para completar 1000 mL) para peroxidase (POX).

Para resolução dos sistemas enzimáticos se adotaram os seguintes procedimentos, com base na metodologia proposta por Scandalios (1969) e Alfenas (1998), com algumas modificações: a) EST: os géis foram corados usando-se 3,0 mL de α e β - naftil acetato 1% em acetona 50%; 40 mg de fast blue RR salt; 50 mL de tampão fosfato de sódio monobásico 0,2 M, pH 4,3; 10 mL de tampão fosfato de sódio dibásico 0,2 M, pH 9,2; 40 mL de água destilada e, em seguida, foram incubadas

dos duas horas, no escuro, a 37 °C; b) POX: usou-se 0,065 g de 3-amino-9-etil carbazole; 5,0 mL de dimetilformamida; 2,0 mL de CaCl₂; 4 gotas de H₂O₂ a 30%; 85 mL de tampão acetato de sódio 0,05 M, pH 5,0 para a coloração, que se processou no escuro, a temperatura ambiente, durante duas horas; c) ACP: para detectar a presença dessas enzimas se usaram 100 mg de α -naftil fosfato ácido de sódio; 100 mg de fast garnet GBC salt; 1,0 mL de MgCl₂ a 1%; 100 mL de tampão acetato de sódio 0,2 M, pH 5,0, sendo os géis incubados a 35 °C, por 60 min; d) ADH: os géis foram corados com 20 mL de etanol (95%), 20 mg de NAD⁺, NA₂, 20 mg de MTT, 20 mg de PMS, 100 mL de tampão tris-HCL 0,2 M, pH 8, e incubados a 37 °C, durante 60 min.

Após a coloração, todos os géis foram lavados, fixados em solução contendo álcool metílico, ácido acético e água destilada na proporção de 1:1:v/v por 20 min, avaliados para confecção dos zimogramas e em seguida fotografados.

Para identificação de fenótipos ou padrões isoenzimáticos, encontrados em cada sistema, consideraram-se as similaridades no número e posição das bandas nos géis. Os dados foram tabulados conforme a presença (1) ou ausência (0) de bandas nos géis, para serem usados no estudo da diversidade genética por meio da análise multivariada no programa NTSYS-pc, Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, versão 1.70 (Rohlf, 1993). O dendrograma foi confecionado com base no método de agrupamento UPGMA, usando-se o índice de similaridade de Dice, equivalente ao de Nei & Li (1979).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os quatro sistemas isoenzimáticos revelados permitiram identificar 11 locos com boa revelação, nos quais se pode observar genótipos com variação na intensidade e no número de bandas (Figura 1).

Constatou-se maior polimorfismo isoenzimático, traduzido em maior número de bandas, no sistema EST (Figura 1A), indicando a existência de diferenças genéticas entre os genótipos estudados, cuja eficiência na identificação de variabilidade foi superior à dos sistemas peroxidase (POX), fosfatase ácida (ACP) e álcool desidrogenase (ADH).

Os estudos de identificação de variabilidade genética em fruteiras através de eletroforese de isoenzimas de tecidos jovens, geralmente apresentam esterase e/ou peroxidase como sistemas de maior revelação de polimorfismo isoenzimático; esses sistemas têm contribuído na caracterização de bancos de germoplasma para diferenciar genótipos através das múltiplas formas, pesos moleculares e carga elétrica de uma mesma enzima (Tanksley & Orton, 1983; Alfenas, 1998).

O sistema EST (Figura 1A) apresentou seis regiões de bandas polimórficas entre os 33 genótipos de cajá-umbu estudados, permitindo identificar 11 fenótipos diferentes, assim formados: fenótipo 1 (bandas EST-1, EST-4 e EST-5) com os genótipos 8, 9, 10, 13, 15 e 22; fenótipo 2 (bandas EST-1, EST-2 e EST-5) com os genótipos 2, 18, 20, 24, 27 e 32; fenótipo 3

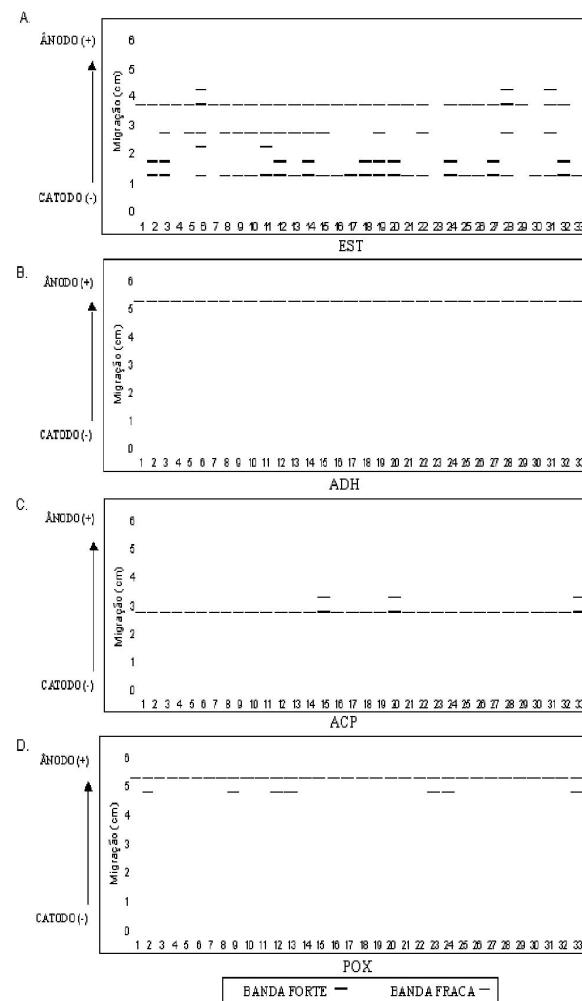


Figura 1. Sistemas isoenzimáticos esterase (EST), fosfatase ácida (ACP), álcool desidrogenase (ADH) e peroxidase (POX) de 33 genótipos de cajá-umbuzeiro do Banco de Germoplasma do IPA em Itambé-PE

Figure 1. Isoenzymatic systems esterase (EST), alcohol desidrogenase (ADH), acid phosphatase (ACP), peroxidase (POX) of 33 cajá-umbuzeiro genotypes of the IPA - Germoplasm Bank, Itambé, Pernambuco State

(bandas EST-1 e EST-5) com os genótipos 16, 17, 21, 25 e 26; fenótipo 4 (bandas EST-5) com os genótipos 1, 4, 7 e 29; fenótipo 5 (bandas EST-1, EST-2, EST-4 e EST-5) com os genótipos 3, 12, 14 e 19; fenótipo 6 (bandas EST-4 e EST-5) com o genótipo 5; fenótipo 7 (bandas EST-1, EST-3, EST-4, EST-5 e EST-6) com o genótipo 6; fenótipo 8 (bandas EST-1, EST-3, EST-4 e EST-5) com o genótipo 11; fenótipo 9 (bandas EST-1, EST-4, EST-5 e EST-6) com os genótipos 28 e 31; fenótipo 10 (bandas EST-1) com os genótipos 30 e 33; fenótipo 11 sem bandas reveladas com o genótipo 23, cujos resultados podem ser explicados pela utilização de tecido vegetal (folhas) em estádio juvenil, período em que, normalmente, a maioria dos genes se está expressando e, consequentemente, codificando maior quantidade de proteínas, permitindo visualizar, através de métodos histoquímicos, várias regiões de bandas polimórficas.

De acordo com Silva et al. (2000), as esterases, além de serem enzimas muito sensíveis à interferência de fatores abióticos, estão envolvidas em muitas vias metabólicas da planta. As esterases, por apresentarem uma enorme diferenciação em seus padrões isoenzimáticos, têm sido usadas na caracterização da variabilidade genética de espécies frutíferas tropicais nativas e exóticas, como por exemplo: umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) (Souza, 2000); cagaita (*Eugenia dysenterica* D.C.) (Telles et al., 2003); camu-camu (*Myrciaria dubia*) (Teixeira et al., 2004) e acerola (*Malpighia emarginata* D. C.) (Freitas et al., 1995; Musser, 2001).

O sistema ADH (Figura 1B) mostrou apenas uma região de bandas, representada pelo lócus ADH-1 mostrando, assim, um sistema monomórfico, não contribuindo para separar os genótipos estudados.

Quanto ao sistema ACP (Figura 1C), foram reveladas bandas em dois locos, ACP-1 e ACP-2 (Figura 1). O loco ACP-1 mostrou-se ativo em todos os indivíduos, variando apenas quanto à intensidade das bandas e o loco ACP-2 revelou bandas apenas nos genótipos 15; 20 e 33 permitindo, desta forma, agrupá-los em dois fenótipos: um fenótipo com as bandas ACP-1 e ACP-2 (genótipos 15; 20 e 33) e o outro fenótipo, com a banda ACP-1, formado com os demais genótipos.

O sistema POX (Figura 1D) apresentou duas regiões de atividades formadas pelos locos anódicos POX-1 e POX-2. O loco POX-2 mostrou-se monomórfico, estando presente em todos os genótipos. O loco POX-1 permitiu agrupar os genótipos em dois fenótipos diferentes, ou seja, um formado pelos genótipos 2; 9; 12; 13; 23; 24 e 33 e outro fenótipo formado pelos demais genótipos. De modo geral, o sistema POX se mostra bastante polimórfico em folhas em estádio adulto, em que o incremento da atividade desta enzima é fundamental no controle de danos por processos oxidativos (Sreenivasulu et al., 1999) podendo o evento justificar a baixa atividade da peroxidase neste trabalho.

Através dos coeficientes de similaridade genética, obtidos a partir dos quatro sistemas isoenzimáticos, identificaram-se as seguintes combinações genotípicas com 100% de similaridade entre bandas: 2 x 24; 4 x 29; 5 x 8; 5 x 10; 5 x 22; 7 x 16; 7 x 17; 7 x 21; 7 x 25; 7 x 26; 9 x 13; 14 x 19; 18 x 27; 18 x 32; 28 x 31 (Figura 2). Esses resultados indicam que tais genótipos possuem alto grau de parentesco entre si, necessitando de novas introduções para maior representatividade do germoplasma analisado.

O menor grau de similaridade genética (0,45) foi observado entre as seguintes combinações genotípicas: 6 x 2; 6 x 20; 6 x 24; e 6 x 33, indicando o baixo grau de parentesco entre si. Após a realização de estudos de caracterização do potencial agronômico e qualitativo de frutos, deve-se explorar a heterose, a partir de hibridações, entre os genótipos geneticamente divergentes e complementares para as características favoráveis ao cultivo agroindustrial.

O dendrograma construído (Figura 2), de acordo com os coeficientes de similaridade genética, indica a formação de dois grupos principais, sendo um formado apenas pelo genótipo 6 e o outro grupo maior, formado por dois sub-grupos, sendo um formado pelo genótipo 23 e o outro pelos demais genótipos.

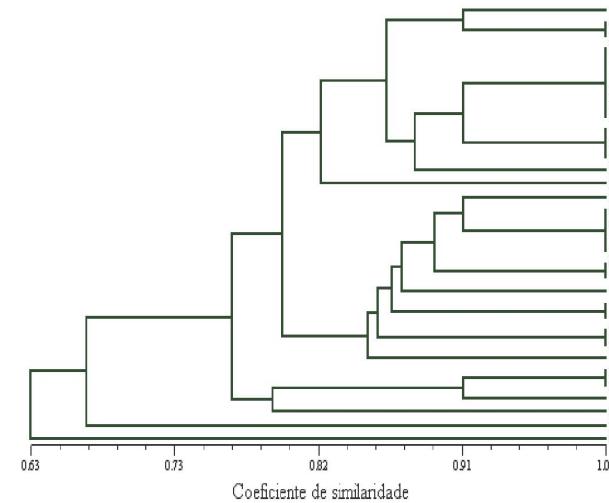


Figura 2. Análise de agrupamento pelo método UPGMA referente aos sistemas isoenzimáticos esterase (EST), fosfatase ácida (ACP), álcool desidrogenase (ADH) e peroxidase (POX) de 33 genótipos de cajá-umbuzeiro do banco de germoplasma do IPA em Itambé, PE

Figure 2. Analysis of grouping for UPGMA method referring to the isoenzymatic systems esterase (EST), acid phosphatase (ACP), alcohol desidrogenase (ADH), peroxidase (POX) of 33 'cajá-umbuzeiro' genotypes of the IPA Germoplasm Bank, Itambé Pernambuco State

CONCLUSÕES

Os coeficientes calculados indicam que a maioria dos genótipos de cajá-umbuzeiro apresenta alta similaridade genética.

Em função do alto grau de parentesco constatado, recomendam-se novas introduções no banco de germoplasma de cajá-umbuzeiro do IPA, em Itambé, PE.

Os genótipos 2; 6; 20; 24 e 33 apresentaram os menores coeficientes de similaridade genética.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (Melhoramento Genético de Plantas) e ao Laboratório de Genética-bioquímica Seqüenciamento de DNA Profª Tânia Falcão da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

LITERATURA CITADA

- Alfenas, A.C. Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. 1. ed. Viçosa: UFV, 1998. 574p.
- Borém, A.; Miranda, G.V. Melhoramento de plantas. 4. ed. Viçosa: UFV, 2005. 525p.
- Bruckner, C.H. Melhoramento de fruteiras tropicais. 1. ed. Viçosa: UFV, 2002. 422p.

- Carvalho, P.C.L. de; Soares Filho, W. dos S.; Ritzinger, R.; Carvalho, J.A.B.S. Conservação de germoplasma de fruteiras tropicais com a participação do agricultor. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 24, n. 1, p.277-281, 2002.
- EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília: Embrapa Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999. 412p.
- Freitas, N.S.A.; Burity, H.A.; Bezerra, J.E.F.; Silva, M.V. Caracterização de clones de acerola (*Malpighia glabra* L.) através dos sistemas isoenzimáticos peroxidase-esterase. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.20, n.12, p.1453-1457, 1995.
- Giacometti, D.C. Recursos genéticos de frutíferas nativas do Brasil. In: Simpósio Nacional de Recursos Genéticos de Frutíferas Nativas, 1, 1992, Cruz das Almas. Anais...Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 1993. p. 13-27.
- Jacomine, P.K.T.; Cavalcanti, A.C.; Burgos, N.; Pessoa, S.C.P.; Silveira, C. O. Levantamento exploratório – reconhecimento de solos do Estado de Pernambuco, Recife: MANDNPEA/SUDENE-DRN, 1973, 359 p. (Boletim Técnico, 26/ SUDENE-DRN. Série Pedológica, 14).
- Lima, E.D.P. de A.; Lima, C.A. de A; Aldrigue, M.L.; Gondim, P.S. Caracterização física e química dos frutos da umbu-cajazeira (*Spondias* spp.) em cinco estádios de maturação, da polpa e néctar. Revista Brasileira de Fruticultura, v.24, n.2, p.338-343, 2002.
- Lira Júnior, J.S.; Musser, R.S. dos; Melo, E. de A.; Maciel, M.I.S.; Lederman, I.E.; Santos, V.F. dos. Caracterização física e físico-química de frutos de cajá-umbu (*Spondias* spp.). Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 25, n. 4, p.757-761, 2005.
- Moraes, V.H. de F.; Muller, C.H.; Souza, A.G.C. de; Antônio I.C. Native fruit species of economic potential from the brazilian Amazon. Angewandte Botanik, v. 68, p. 47-52, 1994.
- Musser, R. dos S. Caracterização de acessos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.) do banco ativo de germoplasma da UFRPE em Pernambuco. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2001. 148p. Tese de Doutorado.
- Nei, M.; Li, W.H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America, v.76, p.5269-5273, 1979.
- Pires, M.G.M. Estudo taxonômico e área de ocorrência de um buzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) no Estado de Pernambuco, Brasil. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 1990. 290p. Dissertação de Mestrado.
- Rolhf, J.F. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. New York: Exeter Software. Version 1.70. 1993.
- Scandalios, J.G. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants. Biochemical Genetics. v.3, p.337-379, 1969.
- Silva, E.A.A. do; Pinho, E.V.R.V.; Vieira, M.G.G.C.; Carvalho, M.L.M. de; Machado, J.C. Alterações de isoenzimas em sementes de milho infectadas por fungos. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.35, p.1725-1732, 2000.
- Silva Júnior, J.F.; Bezerra, J.E.F.; Lederman, I.E.; Alves, M.A.; Melo Neto, M.L. Collecting, *ex situ* conservation and characterization of “ cajá-umbu” (*Spondias mombin* x *Spondias tuberosa*) germplasm in Pernambuco State, Brazil. Genetic Resources and Crop Evolution, v.51, p.343-349, 2004.
- Souza, J.C. Variabilidade genética e sistema de cruzamento entre populações naturais de umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) em Juazeiro. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 86p. Tese de Doutorado.
- Souza, V.A.B. de. Perspectivas do melhoramento de espécies nativas do Nordeste brasileiro. In: Congresso Brasileiro de Melhoramento Genético de Plantas, 1, 2001, Goiânia. Resumos ... Goiânia: EMBRAPA Meio-Norte, 2001, p. 45.
- Sreenivasulu, N.; Ramanjulu, S.; Ramachandrakini, K.; Prakash, H.S.; Shekar-Shetty, H.; Savithri, H.S.; Sudhakar, C. Total peroxidase activity and peroxidase isoforms as modified by salt stress in two cultivars of fox-tail millett with differential salt tolerance. Plant Science, v.141, p.1-9, 1999.
- Tanksley, S.D.; Orton, T.J. Isozymes in plant genetics and breeding: Part B. Amsterdam: Elsevier, 1983. 472p.
- Teixeira, A.S.; Chaves, L. da S.; Yuyama, K. Esterases no estudo da estrutura populacional de camu-camu (*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh-Myrtaceae), Acta Amazonica, v.31, n.1, p.18, 2004.
- Telles, M.P.C. de.; Coelho, A.S.G.; Chaves, L.J.; Diniz Filho, J.A.F.; Valva, F.D. Genetic diversity and population structure of *Eugenia dysenterica* D.C. (“cagaiteira” -Myrtaceae) in Central Brazil: Spatial analysis and implications for conservation and management, Conservation-Genetics, v.4, p.685-695, 2003.