



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

JOSÉ ITAMAR FROTA JÚNIOR

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE PROGÊNIES DE MEIOS-IRMÃOS DE
CAJUEIRO ANÃO PRECOCE**

FORTALEZA-CE

2012

JOSÉ ITAMAR FROTA JÚNIOR

DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE PROGÊNIES DE MEIOS-IRMÃOS DE CAJUEIRO
ANÃO PRECOCE

Tese submetida à coordenação do curso de Pós-Graduação em Biotecnologia – Renorbio da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Benildo Sousa Cavada

Coorientador: Pesq. Ph.D José Jaime Vasconcelos Cavalcanti

FORTALEZA-CE

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

-
- F961d Frota Junior, José Itamar.
Divergência genética entre progênies de meios - irmãos de cajueiro anão precoce. / José Itamar Frota Júnior. – 2012.
106 f.: il. color., enc.; 30 cm.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (Rede), Fortaleza, 2012.
Área de Concentração: Biologia molecular e genética.
Orientação: Prof. Dr. Benildo Sousa Cavada.
Coorientação: PhD. José Jaime Vasconcelos Cavalcanti.
1. Divergência genética. Caju – Melhoramento genético. 3. Cajueiro anão. I. Título.

CDD 660.6

JOSÉ ITAMAR FROTA JÚNIOR

DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE PROGÊNIES DE MEIOS-IRMÃOS DE CAJUEIRO
ANÃO PRECOCE

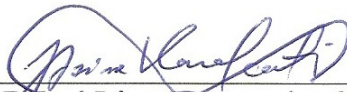
Tese submetida à coordenação do curso de Pós-Graduação em Biotecnologia – Renorbio, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Aprovada em 29/02/2012

BANCA EXAMINADORA



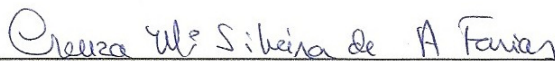
Prof. Dr. Benildo Sousa Cavada (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)



Pesq. Ph.D. José Jaime Vasconcelos Cavalcanti (Coorientador)
Embrapa Algodão (EMBRAPA CNPA)



Dr. João Batista Cajazeiras
Universidade Federal do Ceará (Pos-Doc PNPd)



Prof. Dra. Creuza Maria Silveira A. de Farias
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)



Prof. Dr. Rodrigo Maranhão Silva da Cunha
Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA)

Aos meus filhos Mariana e Guilherme, para que acreditem no trabalho, dedicação, perseverança e acima de tudo, em Deus.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela força e perseverança necessárias para a concretização deste estudo.

Aos meus pais José Itamar Frota e Maria Madalena Araújo Frota pelo exemplo de dignidade, justiça, educação, apoio e incentivo no decorrer de minha vida.

À minha irmã Sâmia, pelo exemplo de determinação e competência, assim como à minha irmã Najla, pelo apoio principalmente nos momentos mais difíceis, onde muitas vezes foi necessário superação.

À minha esposa Marcivânia e meus queridos filhos Mariana e Guilherme, motivo maior de todo esforço e determinação ao longo do curso.

Ao professor e amigo Benildo Sousa Cavada da UFC, pela credibilidade, compreensão, apoio e confiança depositados em mim durante todo o curso.

Ao pesquisador e amigo José Jaime Vasconcelos Cavalcanti da Embrapa Algodão. Pela orientação, contribuição valorosa, dedicação e disponibilidade, apesar da distância.

À professora Cândida Hermínia da UFC, por estar disponível para esclarecer dúvidas e fazer parte da banca de qualificação.

Aos participantes da banca de defesa da tese, professores Benildo Sousa Cavada, Rodrigo Maranguape e Maria Creuza Silveira e os pesquisadores Jaime Cavalcanti e João Batista.

Às colegas Eveline e Emília, fundamentais para a realização dos trabalhos em laboratório.

Aos colegas Fred e Natália pelo incentivo e apoio necessários em alguns momentos.

Ao colega Tiago Dias, pelo auxílio com o software GENES, assim como, na configuração de parte deste trabalho.

Aos colegas de doutorado Fabiano e Raquel, parceiros em alguns seminários do curso, assim como a Fátima, amiga que me incentivou a cursar o doutorado.

Ao Secretário de Desenvolvimento Agrário de Itapipoca, Francisco Roberto Pinto Leite, pela compreensão de minha ausência no trabalho em vários momentos.

Aos agricultores familiares de Itapipoca, especialmente aos cajucultores, que tanto sofrem em razão dos diversos problemas em toda cadeia produtiva.

Aos extensionistas rurais, profissionais indispensáveis para a difusão de tecnologias no campo, geradas por meio de trabalhos como este.

Aos funcionários da Renorbio, em especial à Karine e ao Paulo que sempre estiveram à nossa disposição na secretaria.

A todos os professores da Renorbio, pela dedicação, parceria e confiança depositadas em todos os alunos.

Ao amigo, Dr. João Ribeiro Crisóstomo, um dos meus incentivadores na pesquisa com caju e melão junto à Embrapa Agroindústria Tropical.

À Embrapa Agroindústria Tropical pelo apoio técnico, assim como, a utilização de suas instalações (Laboratório de Biologia Molecular e Estação Experimental de Pacajus), além de materiais e reagentes cedidos.

A todas as pessoas que de maneira sincera torceram para mais essa vitória em minha vida.

É melhor tentar e falhar, que preocupar-se e ver a vida passar, é melhor tentar, ainda que em vão, que sentar-se fazendo nada até o final. Eu prefiro na chuva caminhar, que em dias tristes em casa me esconder. Prefiro ser feliz, embora louco, que em conformidade viver.

(Martin Luther King)

Figura 1 – Tecnologia de substituição de copas em cajueiro (Itapipoca-CE)



RESUMO

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de caracterizar e avaliar a diversidade genética de progênies de meios-irmãos de cajueiro anão precoce da Embrapa Agroindústria Tropical por meio de marcadores moleculares e morfológicos, assim como, a indicação dos materiais divergentes para o programa de melhoramento genético. Foram utilizadas 50 progênies instaladas no Campo Experimental de Pacajus, CE. Na análise molecular, cada progênie foi amostrada coletando-se folhas de duas plantas/parcela e analisadas no laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Agroindústria Tropical. Foram realizadas extrações de DNA baseadas no método CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) ajustado por Cavalcanti (2004) e utilizados marcadores do tipo ISSR (Inter Simple Sequence Repeat). Utilizou-se o coeficiente de Jaccard e análise de agrupamento UPGMA (Método de Média Aritmética Não Ponderada) para análise dos grupos. Doze iniciadores ISSR geraram 71 bandas das quais 27 foram polimórficas. A análise de agrupamento permitiu a divisão em quatorze grupos de similaridade genética, onde as progênies mais divergentes foram CNPAT 92-56, CNPAT 92-62 e CNPAT 92-385 e as mais similares foram CNPAT 92-331 e CNPAT 92-335. Na análise quantitativa foram utilizadas as seguintes variáveis: altura da planta, diâmetro da copa, número de castanhas e produção. Foi utilizada a Distância Euclidiana para análise da distância genética e UPGMA para a análise de agrupamento. A produção foi a variável que obteve maior contribuição relativa para a divergência genética com 97,80%. A análise de agrupamento UPGMA possibilitou a distribuição de 11 grupos. O material mais divergente foi o CNPAT 92-331 oriundo da Fazenda Capisa (Piauí). Os mais similares formaram o subgrupo I do grupo I, CNPAT 92-54 e CNPAT 92-58 com 95% de similaridade. Há variabilidade genética, no entanto não foram encontradas relações diretas entre a análise molecular e a quantitativa.

Palavras-chave: Divergência genética, cajueiro anão precoce, melhoramento genético

ABSTRACT

The present work was developed in order to characterize and evaluate the genetic diversity of dwarf cashew progenies from Embrapa Agroindústria Tropical using molecular and morphological markers as well as the indication of divergent materials to the breeding program. It was used 50 dwarf cashew progenies from Embrapa Agroindústria Tropical collection located in the Experimental Center of Pacajus, Ceará. In the molecular analysis, each progeny was sampled by collecting leaves from two plants per plot and then analyzed at Embrapa's molecular biology lab. It was performed DNA's extractions based on CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide) method, adapted by Cavalcanti (2004). ISSR's markers (Inter Simple Sequence Repeat) were used. Jaccard's coefficient and UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) cluster analysis were applied in the group analysis. Cluster analysis allowed the division into fourteen groups of genetic similarity being the most divergent progenies CNPAT 92-56, 92-62 and 92-385, and the most similar ones CNPAT 92-331 and 92-335. Variables such as plant height, diameter, number of nuts and production, were used in the quantitative analysis. Euclidian distance was used in the genetic distance analysis. UPGMA method were used in cluster analysis. The variable with highest relative contribution to genetic divergence was production, with 97,80%. The UPGMA cluster analysis allowed the division into eleven groups. The most divergent material was CNPAT 92-331 coming from Capisa farm in Piauí state. The most similar materials formed the subgroup I of group I, CNPAT 92-54 and 92-58 with 95% similarity. There is genetic variability, however no direct relationship between molecular and quantitative analysis was found.

Key words: Genetic divergence, precocious dwarf cashew, genetic improvement

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1. Tecnologia de substituição de copas em cajueiro comum | 07 |
| Figura 2. Clones comerciais da Embrapa..... | 37 |
| Figura 3. Vista parcial do experimento (poda drástica realizada) | 54 |
| Figura 4. Retirada das amostras coletadas em campo | 60 |
| Figura 5. Eletroforese em gel de agarose 1%..... | 61 |
| Figura 6. Termociclador Flexigene da Thecne..... | 64 |
| Figura 7. Resultado da eletroforese em gel de agarose 1,8% com visualização dos DNAs das progênies de cajueiro anão precoce (1 a 25), usando uma PCR com concentração de 1,5 mM de MgCl ₂ | 67 |
| Figura 8. Resultado da eletroforese em gel de agarose 1,8% com visualização dos DNAs das progênies de cajueiro anão precoce (1 a 25), usando uma PCR com concentração de 2,0 mM de MgCl ₂ | 68 |
| Figura 9. Padrão de amplificação de vinte e cinco progênies de cajueiro utilizando o ISSR 825. Linhas laterais marcador de 1Kb e linhas de 1 a 25 correspondem às progênies de cajueiro. Setas indicam marcadores polimórficos. | 69 |
| Figura 10. Dendrograma obtido a partir da amplificação de doze iniciadores ISSR para 50 progênies de cajueiro anão precoce..... | 75 |
| Figura 11. Dendrograma representativo da dissimilaridade genética entre 50 progênies de cajueiro anão precoce pelo método da ligação média entre grupo (UPGMA), utilizando-se a distância Euclidiana (D) como medida de dissimilaridade | 85 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Produção mundial de castanha de caju (em toneladas) por ano no período entre 2002 e 2007..... | 18 |
| Tabela 2. Progênes instaladas no campo experimental da Embrapa em Pacajus-CE..... | 56 |
| Tabela 3. Iniciadores selecionadas para o experimento..... | 63 |
| Tabela 4. Sequência do iniciador, bandas geradas e polimórficas dos 11 iniciadores ISSR utilizadas na caracterização das progênes de cajueiro..... | 70 |
| Tabela 5. Dissimilaridade obtida pelo coeficiente de Jaccard (matriz) e progênes meio-irmãos de cajueiro anão precoce, Pacajus, CE..... | 71 |
| Tabela 6. Grupos e subgrupos obtidos a partir a amplificação de 12 iniciadores ISSR para cinquenta progênes de cajueiro anão precoce | 76 |
| Tabela 7. Distâncias Euclidianas máxima e mínimas entre 50 progênes de caju..... | 78 |
| Tabela 8. Contribuição relativa das variáveis resposta para a divergência genética em 50 progênes de cajueiro | 81 |
| Tabela 9. Subgrupos formados pelas 50 progênes de caju baseado na dissimilaridade expressa pela distância Euclidiana | 83 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------|---|
| ACC | Amêndoa da castanha do caju |
| LCC | Líquido da casca do caju |
| ISSR | Inter simple sequence repeat |
| CCP | Clone cajueiro Pacajus |
| CNPAT | Centro Nacional Agroindústria Tropical |
| CTAB | Cationic Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide |
| EDTA | Ethylenediaminetetracetate |
| PVP | polyvinylpyrrolidone |
| TBE | Tris-borate EDTA |
| TE | Tris-EDTA |
| BSA | Bovine Serum Albumine |
| dNTPs | Deoxinucleotide Triphosphates |
| UPGMA | Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean |
| PIC | Polymorphism information content |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| LISTA DE ILUSTRAÇÕES..... | 10 |
| LISTA DE TABELAS..... | 11 |
| LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS..... | 12 |
| | |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 15 |
| 2. OBJETIVOS..... | 16 |
| 2.1. Objetivo geral | 16 |
| 2.2. Objetivos específicos..... | 16 |
| | |
| 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 17 |
| 3.1. O cajueiro | 17 |
| 3.1.1. A importância da cajucultura para o Nordeste do Brasil..... | 17 |
| 3.1.2. Evolução histórica da cajucultura | 20 |
| 3.1.3. Botânica e morfologia | 25 |
| 3.1.4. Clima e fenologia | 28 |
| 3.2. Melhoramento e variabilidade genética no cajueiro | 30 |
| 3.2.1. Clones comerciais da Embrapa Agroindústria Tropical..... | 34 |
| 3.3. PCR (Polymerase Chain Reaction) Reação em Cadeia da Polimerase..... | 38 |
| 3.4. Marcadores morfológicos e moleculares..... | 39 |
| 3.5. Utilização de marcadores moleculares na cultura do cajueiro | 47 |
| 3.6. Divergência e diversidade genética..... | 48 |
| 3.7. Técnicas multivariadas | 50 |
| | |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS | 54 |
| 4.1. Material Vegetal..... | 54 |
| 4.2. Avaliação morfoagronômica | 58 |
| 4.3. Caracterização molecular | 59 |
| 4.3.1. Coleta do material vegetal | 59 |
| 4.4. Extração do DNA..... | 60 |

| | |
|--|-----------|
| 4.5. Condições de amplificação de fragmentos de DNA | 62 |
| 4.6. Análise dos dados..... | 65 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 67 |
| 5.1. Análise de divergência usando dados moleculares | 67 |
| 5.1.1. Coeficiente de similaridade de Jaccard | 70 |
| 5.1.2. Análise de agrupamento | 73 |
| 5.2. Análise da divergência genética usando dados de caracteres quantitativos | 77 |
| 5.3. Análise de agrupamento..... | 83 |
| 6. CONCLUSÕES..... | 87 |
| 7. REFERÊNCIAS..... | 88 |
| ANEXOS..... | 98 |
| | |
| ANEXO A. Dados referentes à análise quantitativa médias da altura da planta em metros e diâmetro da copa (m)..... | 99 |
| ANEXO B. Dados referentes à análise quantitativa médias da altura da planta em metros e diâmetro da copa (continuação)..... | 100 |
| ANEXO C. Dados referentes à análise quantitativa, médias do número de castanhas e produção, anos 1995, 1996 e 1997..... | 101 |
| ANEXO D. Dados referentes à análise quantitativa, médias do número de castanhas e produção, anos 1995, 1996 e 1997 (continuação)..... | 102 |
| ANEXO E. Relação de primers ISSR utilizados na análise de divergência genética de 50 progênies de cajueiro anão precoce, com respectivas temperaturas de pareamento (Tp), número de bandas totais (NBT), número de bandas polimórficas (NBP) e percentagem de polimorfismo (P%)..... | 103 |
| ANEXO F. Relação de primers ISSR utilizados na análise de divergência genética de 50 progênies de cajueiro anão precoce, com respectivas temperaturas de pareamento (Tp), número de bandas totais (NBT), número de bandas polimórficas (NBP) e amplitude dos fragmentos totais (pb)..... | 104 |
| ANEXO G. Análise de agrupamento (UPGMA) realizado pelo software GENES... | 105 |

1. INTRODUÇÃO

A exploração da cultura do caju é uma atividade de importância relevante no Estado do Ceará, tanto no aspecto econômico, quanto no social. Ocupa uma área de 415.000 hectares, beneficiando 57.000 produtores. Na pauta de exportações, tem lugar de destaque com uma arrecadação anual aproximada de US\$ 180 milhões, por meio da comercialização de amêndoas de castanha, assim como, um mercado interno que vem crescendo nos últimos anos, além de gerar 30.000 empregos diretos, 100 mil empregos indiretos no meio rural e 16.000 empregos no setor industrial (EMATERCE, 2011).

O estabelecimento inicial da cajucultura aconteceu, utilizando-se para o plantio, sementes do tipo comum, o que gerou plantas desuniformes, muito altas e com baixa produção. O problema da baixa produtividade e da qualidade da castanha vem-se acentuando no decorrer dos anos, somando-se a outras variáveis como: idade avançada dos pomares, implantação de cajueiros em áreas impróprias além do desestímulo dos produtores em face dos baixos preços recebidos pelo produto (EMATERCE, 2011).

Os clones de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) do tipo anão precoce estão proporcionando grande impulso à cultura do caju no Nordeste do Brasil por apresentar maior produtividade, maior precocidade e menor porte em relação ao tipo comum. Todavia, outros caracteres de importância econômica, como: resistência a doenças, qualidade e peso da castanha, qualidade do pedúnculo necessitam de maiores investigações na área da genética (BARROS et al., 2002).

Várias pesquisas foram desenvolvidas para a obtenção de genótipos de cajueiro que permitissem não só o aumento da produtividade, como também a melhoria da qualidade da castanha para a indústria e o aproveitamento do pedúnculo. Diversos clones e genótipos superiores foram obtidos pelo programa de melhoramento genético do cajueiro da Embrapa Agroindústria Tropical. Na fase atual, a caracterização desses materiais através da utilização de marcadores moleculares torna-se imprescindível, não só para a sua identificação, mas, principalmente, para avaliar a divergência genética, informação importante no direcionamento deste programa (PINHEIRO, 2007).

A divergência genética entre grupos de progenitores tem sido avaliada com o objetivo de identificar genótipos mais divergentes que possibilitem explorar um maior efeito heterótico, de tal forma que em suas gerações segregantes, se tenha maior possibilidade de recuperação de genótipos superiores (CRUZ; REGAZZI, 1997).

As tecnologias disponíveis na Biologia Molecular se constituem em ferramentas importantes para o programa de melhoramento genético do cajueiro, contribuindo para avaliar materiais de maneira mais eficaz e rápida com o objetivo de melhorar a produtividade, qualidade e tolerância às pragas e doenças, entre outras características.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Este estudo visa caracterizar e avaliar a diversidade genética de progênies de meios-irmãos de cajueiro anão precoce da Embrapa Agroindústria Tropical por meio de marcadores moleculares e morfológicos, assim como, a indicação dos materiais mais divergentes para o programa de melhoramento genético (Pré-breeding).

2.2. Objetivos específicos

- Caracterização das progênies em estudo.
- Identificar as progênies mais divergentes em ambas análises (molecular e quantitativa).
- Indicar as progênies mais divergentes para fazer parte do programa de melhoramento genético de cajueiro da Embrapa.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. O cajueiro

3.1.1. A importância da cajucultura para o Nordeste do Brasil

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é uma planta tropical originária do Brasil que, tendo como centro de dispersão o litoral nordestino, encontra-se hoje espalhada por quase todo o território nacional, além de países da África e da Ásia. Apesar de ser encontrado em praticamente todos os estados brasileiros, adapta-se melhor às condições ecológicas do litoral do Nordeste (BRAINER et al., 2006).

O principal centro de diversidade do gênero *Anacardium* é a região Amazônica, com um centro secundário de diversidade nos cerrados, no Planalto Central. Contudo, a maior diversidade de *Anacardium occidentale* L. encontra-se no Nordeste brasileiro (CRISÓSTOMO et al., 2002).

No mundo são comercializadas 240.000 t/ano de ACC (amêndoa da castanha de caju) que resultaram, em 2006, cerca de US\$ 2,8 bilhões para o mercado varejista. A distribuição de valores nos principais elos da cadeia agroindustrial da amêndoa mostra ainda que US\$ 820 milhões foram para a indústria e apenas US\$ 410 milhões para o segmento produtivo, sempre o elo mais fraco de qualquer cadeia agroindustrial. O valor da ACC, que é consumida na forma de aperitivo, poderá aumentar se confirmado os estudos recentes que mostram que ela é rica em ácidos graxos insaturados, predominando o oléico (60,3%) e o linoléico (21,5%), ou seja, contém altos teores de ômega 9 e ômega 6 que são essenciais em todo o ciclo vital dos humanos (GAZZOLA et al., 2007 apud CAVALCANTI; BARROS, 2009).

Na safra de 2007, a área colhida e a produção nos principais países produtores foram estimadas em, respectivamente, 3.817.041 ha e 3.186.039 t de castanhas (FAO 2009), onde Vietnã, Nigéria, Índia, Brasil, Indonésia, Filipinas, Costa do Marfim, Tanzânia e Guiné-Bissau foram os principais produtores de castanha de caju (Tabela 1) (Cavalcanti; Barros 2009).

Tabela 1. Produção mundial de castanha de caju (em toneladas) por ano no período entre 2002 e 2007.

| Países | Anos | | | | | |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 |
| Vietnã | 515.200 | 657.600 | 818.800 | 960.800 | 941.600 | 961.000 |
| Nigéria | 514.000 | 524.000 | 555.000 | 594.000 | 636.000 | 660.000 |
| Índia | 470.000 | 500.000 | 535.000 | 544.000 | 573.000 | 620.000 |
| Brasil | 164.539 | 183.094 | 187.839 | 152.751 | 243.770 | 176.384 |
| Indonésia | 110.232 | 106.931 | 131.020 | 135.070 | 140.573 | 146.000 |
| Filipinas | 7.000 | 7.000 | 116.910 | 116.533 | 113.071 | 118.000 |
| Costa do Marfim | 104.985 | 84.811 | 140.000 | 175.000 | 200.000 | 130.000 |
| Tanzânia | 67.300 | 95.000 | 79.000 | 72.000 | 90.400 | 92.000 |
| Guiné-Bissau | 86.000 | 86.000 | 86.000 | 88.000 | 81.000 | 81.000 |
| Moçambique | 58.000 | 58.000 | 58.000 | 58.000 | 58.000 | 58.000 |
| Outros | 127.535 | 128.227 | 133.051 | 139.416 | 140.935 | 143.655 |
| Mundo | 2.224.791 | 2.430.663 | 2.841.256 | 3.035.570 | 3.218.349 | 3.186.039 |

Fonte: (Adaptado de Cavalcante; Barros, 2009)

A área plantada com cajueiro no Brasil é de aproximadamente 760.395 ha, considerando a área plantada em todos os estados produtores de caju em 2011 (IBGE, 2011).

No Brasil em 2007, cerca de 195 mil produtores colheram em 720 mil ha, 176 mil t de castanhas que resultaram em exportações de 41.569 t de ACC, ou 17% das exportações mundiais, que valeram US\$ 187,5 milhões em divisas para o país. O consumo mundial continua em franco crescimento, o que significa que há necessidade do sistema produtivo melhorar a sua participação em termos de aumento de produtividade, sendo a incorporação de clones mais produtivos o fator de menor custo face ao aumento generalizado observado, em nível mundial, no custo dos insumos agrícolas como um todo (Cavalcanti; Barros 2009).

Já em 2009, o Brasil colheu em 758.085 ha, onde resultaram cerca de 220.505 t de castanhas de caju e rendimento médio de 291 kg de castanhas de caju por hectare (IBGE, 2009).

O Estado do Ceará é o principal produtor e processador de castanha de caju do Brasil. Responde por 45% da produção de castanha *in natura* nordestina e por 73% do volume processado em todo o Nordeste. No período de 2000-2005, o valor médio da receita bruta com a comercialização da amêndoa no mercado interno foi de R\$ 72 milhões enquanto a geração de divisas para o Estado do Ceará, no mesmo período, alcançou o patamar de US\$ 150 milhões com o comércio de amêndoa de castanha do caju (ACC). De acordo com dados publicados no Brasil (2007), é de US\$ 5,14 milhões o volume de divisas geradas, em 2005, com a exportação do líquido da casca da castanha de caju (LCC) (FRANÇA et al., 2008).

Outro fato que confere à cadeia produtiva do caju a sua importância social é sua capacidade de geração de empregos na entressafra das demais explorações agropecuárias. A cadeia produtiva do caju emprega aproximadamente 200 mil trabalhadores, dos quais 180 mil no campo e o restante na indústria. Apesar dessa importância, a cadeia produtiva do caju é desarticulada. O segmento da produção caracteriza-se pela ocorrência de mais de 90% da área plantada com cajueiro comum de porte alto, baixa produtividade, idade avançada e inadequado manejo, ou seja, o agronegócio do caju cearense se configura como um paradoxo preocupante, pois ora se apresenta como de grande importância econômica e social, ora se apresenta como uma cadeia estagnada e tendente a perder competitividade (FRANÇA et al., 2008).

A baixa produtividade das lavouras é o problema mais significativo da cajucultura no Brasil, com média de 220 kg de castanhas *in natura* por hectare, razão pela qual o programa de pesquisa de melhoramento genético da Embrapa Agroindústria Tropical vem dando prioridade à obtenção de cultivares mais produtivas (BARROS; CRISÓSTOMO, 1995).

Diversos fatores contribuem para a baixa produtividade dos atuais plantios, dentre eles a propagação realizada por sementes é a principal, já que o cajueiro é uma espécie predominantemente alógama, o que resulta na heterogeneidade de diversos caracteres da planta (CRISÓSTOMO et al., 1992; BARROS et al., 2002).

Mesmo quando as sementes são obtidas de plantas de alta produção, o resultado é a heterogeneidade tanto dos caracteres ligados diretamente à planta: altura, formato e expansão da copa, época do florescimento e produção; como ao fruto: peso, formato e coloração do pedúnculo, peso da castanha e da amêndoa, facilidade de despêliculagem da

amêndoa, relação peso da amêndoa/peso do fruto (CRISÓSTOMO et al., 1992), além da própria qualidade do pedúnculo, em termos de acidez, teor de tanino e quantidade de sólidos solúveis.

Diante dessa situação, urge modernizar o segmento da produção agrícola a partir do uso de clones superiores, substituição de copas de cajueiros improdutivos por material genético superior, implementação de boas práticas agrícolas, rastreabilidade dos cultivos e utilização de eficientes técnicas de colheita e pós-colheita (FRANÇA et al., 2008).

Não obstante o Brasil ser berço do cajueiro e as missões colonizadoras encontrarem o indígena brasileiro utilizando essa espécie para diversos fins, a exploração do cajueiro com finalidade econômica atravessou alguns séculos restrita ao consumo local das zonas produtoras (LEITE, 1994).

3.1.2. Evolução histórica da cajucultura

A domesticação e o melhoramento genético do cajueiro podem ser caracterizados em cinco fases distintas (PAIVA et al., 1997). A primeira remonta à época da descoberta pelos nativos, de plantas com pedúnculos adequados à alimentação na forma de consumo *in natura* ou na elaboração de bebidas (PAIVA et al., 2000).

Até o início da década de 50, a produção de castanhas era essencialmente extrativista. Exemplos isolados das primeiras tentativas para estabelecimentos de plantios sistematizados de cajueiro, com fins comerciais no município de Pacajus, CE, são encontrados na literatura. Foi nesse município que, em 1956, o governo federal estabeleceu uma coleção de matrizes de cajueiro, que foi objeto de investigação agrônômica, na Estação Experimental de Pacajus, pertencente ao então Ministério da Agricultura. O melhoramento genético do cajueiro tem seu marco histórico quando da introdução de plantas do cajueiro anão precoce naquela estação (PAIVA et al., 2003).

A década de 60 e 70 foi a fase dos grandes plantios comerciais em decorrência de um programa de expansão da cajucultura a partir de incentivos governamentais de fomento à cultura. Nesses plantios utilizou-se apenas o cajueiro comum no plantio direto de sementes ou

na formação de mudas de pé franco, em espaçamentos definidos. Neste período, as atividades de pesquisas centraram-se na identificação e no controle da produção de castanhas de plantas individuais, selecionadas a partir de informações em propriedades particulares da região de Pacajus, Ceará, onde localiza-se a Estação Experimental de Pacajus, EEP, então do DNPA – Departamento Nacional de Pesquisa Agropecuária do Ministério da Agricultura, atualmente pertencente a Embrapa. Após a identificação das plantas que se destacavam em produção, foram formados novos plantios com sementes colhidas destas plantas (BARROS et al., 1998).

Na quarta fase, foram obtidos e avaliados clones (conjunto de indivíduos originados de um genótipo comum, que apresentam as mesmas características genéticas) do tipo comum e anão precoce, o que culminou com a recomendação dos clones do tipo anão precoce CCP 06, CCP 76, CCP 09 e CCP 1001, para plantio comercial (BARROS et al., 1984, ALMEIDA et al., 1993, BARROS; CRISÓSTOMO, 1995).

A quinta e atual fase, priorizam as pesquisas para atender as demandas atuais da cajucultura, com enfoque na fruticultura irrigada e ao aproveitamento também do pedúnculo para consumo *in natura*. Neste enfoque a seleção tem de estar orientada para plantas com características de porte baixo para facilitar a colheita manual; pedúnculo com características de coloração, sabor, textura, maior período de conservação, consistência e teor de tanino adequados às preferências do consumidor, castanha de tamanho e peso adequados (>10g), facilidade na despeliculagem, coloração dentro dos padrões internacionais e amêndoas resistentes à formação de “bandas” (PAIVA et al., 2000).

O aproveitamento do cajueiro na região Nordeste evoluiu de uma situação de extrativismo para o estabelecimento de um cultivo agrícola extremamente importante, especialmente para os estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Piauí, com a exportação da amêndoa da castanha de caju tendo alcançado importante participação nas exportações regionais. O fato dos estados mencionados serem os mais afetados pelas alterações climáticas periódicas (secas), que ocorrem na região, permite inferir sobre a ampla adaptabilidade da espécie a região. Além disso, há uma expectativa com relação ao sucesso do cajueiro no semiárido, que constitui mais da metade da área física da região, onde são mais graves os problemas sociais decorrentes da falta de programas e opções econômicas para sua população (BRAINER, 2006).

Do cajueiro, aproveita-se economicamente o fruto verdadeiro, a castanha de caju, para a comercialização da amêndoa e o pedúnculo, na verdade um pseudofruto, mas referido comumente como “o fruto”. Conquanto o consumo de derivados do pseudofruto (sucos, doces, compotas, caju cristalizado, cajuína) e do fruto *in natura* tenha crescido nos últimos anos, é a amêndoa o principal objetivo das explorações (BRAINER et al., 2006).

A oferta de caju (pedúnculos e castanha) se encontra, no geral, pulverizada por um grande número de explorações muito dispersas. Assim os intermediários podem impor condições de preços que muitas vezes não chegam a cobrir os custos de produção no campo, refletindo-se na observada tendência de queda da produtividade média. Daí serem incentivadas as iniciativas visando o estabelecimento de agrupamentos de produtores para a realização de várias operações de comercialização. Esse processo de comercialização na cadeia produtiva do caju do Brasil resulta em margens superiores de comercialização a jusante de cada elo desse agronegócio. Assim, tem-se, de um lado, uma elevada margem de comercialização com a castanha de caju (CC) em prejuízo dos produtores e, de outro, uma margem ainda mais elevada no segmento de amêndoas em prejuízo dos processadores (OLIVEIRA et al., 2005).

O mercado de amêndoa de castanha pode ser dividido em dois segmentos: o que exige amêndoas inteiras, brancas e totalmente isentas de manchas e marcas provocadas por insetos; e outro, menos exigente com relação à qualidade, que aceita tipos quebrados, tostados ou mesmo manchados. Para amêndoas inteiras, a qualidade do produto define sua preferência, caracterizando-o como uma especiaria. Para amêndoas partidas a sua utilização se dá para produtos de confeitaria e padaria em que a integridade da amêndoa não se constitui num fator relevante. Isso condiciona esse segmento à sistemática de um mercado de *commodity*, onde os custos de produção e processamento são essenciais para participar do mercado. As cotações de preços praticadas no mercado mundial para ACC tipo W 320 (320 unidades por libra), por exemplo, estão situadas em U\$ 2,50 por libra peso, podendo chegar até U\$ 3,00 para tipos especiais. No mercado interno, a cotação da amêndoa varia em função da qualidade do produto oferecido (BARROS et al., 2001).

A amêndoa ainda é o principal produto resultante da cajucultura, mas existe consenso de que a viabilidade da atividade, especialmente para o setor produtivo, exige o melhor aproveitamento do pedúnculo, sendo o mercado de frutas de mesa, uma nova e promissora opção (PINHEIRO, 2007).

Particularmente no Brasil, a indústria de transformação do pedúnculo visa a obtenção de diversos produtos, destacando-se bebidas alcoólicas, diferentes tipos de doces, condimentos e componentes para ração animal. A potencialidade desse segmento é das mais significativas, principalmente pela possibilidade de melhoria, a baixo custo, do valor nutricional da dieta alimentar da população de baixa renda, já que o teor de vitamina C do caju, média de 200 mg/100 g de suco, é dos mais elevados entre as fruteiras conhecidas (BARROS et al., 2001).

O Brasil é o maior produtor mundial de pedúnculo para exploração comercial, produzindo 1.650.000 toneladas no ano de 2006 (FAO, 2009). Isto tem ocorrido devido aos novos plantios realizados com cajueiro anão precoce que, por apresentarem porte baixo, permitem a colheita manual com maior aproveitamento e redução de perdas.

Até recentemente, os pedúnculos eram vendidos exclusivamente em feiras locais, porém hoje alcançam supermercados em outras partes do país, localizadas a mais de 4.000 km do local de produção, podendo ser mantidos em boas condições por até 25 dias após a colheita (FILGUEIRAS et al., 1999; MORAIS et al., 2002 apud SANTOS, 2008).

O pedúnculo ou pseudofruto, que representa cerca de nove vezes o peso do fruto (castanha), cujo aproveitamento, até meados dos anos 90, não ultrapassava 5% da produção, vem se tornando, aos poucos, importante segmento da agroindústria do caju. Verifica-se um crescente aumento das vendas, apontando para a conquista de novos mercados com a oferta de 30 subprodutos dos quais destacam-se o suco concentrado, hoje o mais vendido no País, doces, refrigerantes gaseificados e cajuína, um suco puro e clarificado bastante consumido no Estado do Ceará. Entre os fatores responsáveis por essa tendência, pode-se destacar a expansão do consumo do pedúnculo *in natura*, atraindo novos e importantes mercados (PAIVA; BARROS, 2004).

Sem dúvida alguma, o grupo de sucos é o mais importante de todos os produtos obtidos da industrialização do pseudofruto do caju, sendo o suco integral (10-12 °BRIX) o mais consumido no Brasil, representando cerca de 38% do consumo de sucos concentrados e frutas tropicais e que se apresenta como o de menor custo de obtenção, principalmente pela abundância da matéria prima, presente em praticamente toda a Região Nordeste. Esse suco turvo é, geralmente, comercializado sob a denominação de suco integral; com alto teor de polpa, contém aditivos químicos e é embalado em garrafas de 500 ml do produto. O suco de

caju é, habitualmente, consumido como refresco, ou seja, após a diluição em água e adição de açúcar (BARROS et al., 2001).

O consumo de caju de mesa no mercado interno (caju *in natura*) cresce significativamente, principalmente na Região Sudeste, estimulando novos investimentos na expansão dos pomares, na adoção de Boas Práticas Agrícolas e do Sistema de Produção Integrada de Frutas. Essa conquista deve-se em grande medida, ao desenvolvimento do cajueiro anão precoce associado a tantas outras tecnologias, a exemplo da propagação vegetativa, irrigação, controle de pragas/doenças e pós-colheita (OLIVEIRA et al., 2005).

O aumento da lucratividade do cajueiro através da maximização do aproveitamento do pedúnculo, cujo potencial de aproveitamento é dos mais expressivos, notadamente no mercado de frutas, constitui um dos principais desafios do melhoramento genético desta espécie. Os clones a serem gerados, além de amêndoas que atendam às exigências da indústria e dos consumidores, devem proporcionar pedúnculos que satisfaçam aos mais diferentes paladares, de forma a conquistar os mercados das regiões mais desenvolvidas e economicamente mais prósperas do país (BARROS et al., 2002).

No entanto, a comercialização de produtos industrializados do pedúnculo encontra grandes obstáculos, principalmente aceitação, por falta de um trabalho eficiente de *marketing* capaz de mostrar as características nutricionais que o caju oferece. Além disso, problemas com o elevado teor de taninos, que provoca adstringências e escurecimento do produto, obrigam o industrial a utilizar altas doses de conservantes para evitar alterações sensoriais, comuns aos produtos processados do caju. Com relação ao aproveitamento do pedúnculo, não existem estatísticas em razão das diversas formas de uso em produtos caseiros e na alimentação animal, além do consumo direto no próprio campo. Com base apenas nos produtos industrializados, principalmente suco concentrado, o aproveitamento tem sido estimado em cerca de dez por cento, em anos normais de produção (BARROS et al., 2001).

Embora já venha sendo processado industrialmente no Nordeste do Brasil para a produção de bebidas, doces e farinhas, o aproveitamento do pedúnculo ainda é bastante limitado, chegando a ser insignificante em relação à quantidade dessa matéria prima, potencialmente disponível no período da safra. Acredita-se que o grande avanço para o aproveitamento integral do pedúnculo do caju esteja direcionado para a produção de suco límpido concentrado, com ampla aplicação na indústria de bebidas, notadamente na

fabricação de refrigerantes, néctares, vinhos, aguardente, entre outras utilizações (BARROS et al., 2001).

O cajueiro tem sido levado para diferentes agroecossistemas em razão do seu potencial de geração de emprego e renda em regiões onde são difíceis alternativas economicamente mais rentáveis. Para atender a expansão da área cultivada é necessário um abrangente programa de melhoramento que, para ser bem sucedido na tarefa de produzir clones adaptados aos novos ambientes, necessita de diversidade genética quantificada e disponível aos melhoristas (ALMEIDA et al., 1992; ALMEIDA et al., 1993; BARROS et al., 1993; BARROS et al., 2000).

3.1.3. Botânica e morfologia

Anacardium é um pequeno gênero da família Anacardiaceae, constituído de árvores, arbustos e subarbustos nativos dos neotrópicos. Esta família é composta de árvores ou arbustos de folhas alternas coriáceas e sem estípulas, sempre provida de canais resiníferos em seus ramos. Vários gêneros são produtores de frutos comestíveis, como *Mangifera* (mangas), *Spondias* (cajá e umbu) e *Anacardium* (cajus), além de outros possuidores de madeira de ótima qualidade como *Astronium* (Gonçalo Alves, Aroeiras) e *Schinopsis* (baraúna e quebracho) (FERREIRA, 1973 apud PESSONI, 2007).

A primeira descrição e ilustração, baseadas em *Anacardium occidentale*, foi publicado pelo naturalista francês Andre de Thevet em 1558, a partir de observações de indivíduos ocorrentes na costa nordeste do Brasil. A este trabalho se seguiram outros, com descrições e ilustrações da mesma espécie, realizado por exploradores portugueses, cronistas e naturalistas europeus pré-Lineanos. Em 1735, Lineu descreveu *Anacardium* como um gênero e em 1853 a espécie *A. occidentale*. A partir de 1830, Lindley designou *Anacardium* como gênero tipo da família Anacardiaceae (MITCHELL; MORI, 1987).

O cajueiro, denominado *Anacardium occidentale* por Lineu, pertence ao gênero *Anacardium*, da família *Anacardiaceae*. A esta família pertencem, também, os gêneros *Mangifera*, cujo principal representante é a espécie *M. indica* (a manga), uma das frutíferas mais importantes e de ampla distribuição nos trópicos; *Pistacia*, cuja espécie *P. vera* é

cultivada em países de clima mediterrâneo e nos Estados Unidos para exploração da noz que produz (pistaqué ou amêndoa verde); *Spondias*, cujas principais espécies são a ciriguela (*S. purpurea* L.), a cajá (*S. mombim* L.), o umbu (*S. tuberosa* Arr. Cam) e a cajá-manga (*S. cytherea* Sonn.), frutos bastante conhecidos na América tropical. Pertencem, também, a esta família duas espécies de aroeira, *Astronium urundeuva* Engl. e *Schinus terebinthifolius* Raddi; a muiraquatiara, *Astronium lecointein* Ducke; Gonçalo Alves, *Astronium fraxinifolium* Shott; e a baraúna, *Schinopsis brasiliensis* Engl., madeireira e produtora de tanino do sul brasileiro e Argentina; *Pistácia lentiscus* L. e *P. cabulica* Stocks, produtoras de mástique para fabricação de resinas; quatro espécies do gênero *Rhus verniciflua* Stokes produtora de laca, verniz natural de importância econômica (PURSEGLOVE, 1974; BRAGA, 1976; LIMA, 1988 apud FROTA et al., 1995).

A grande variabilidade observada no Brasil foi agrupada em dois tipos de cajueiros bem definidos em relação ao porte, denominados de cajueiros tipos comum e anão precoce. O cajueiro comum é o mais difundido, tanto naturalmente como por cultivo, apresenta porte elevado com altura variando de oito a quinze metros e envergadura da copa, podendo atingir vinte metros. A copa apresenta grande variação de formato e distribuição de ramos, sendo possível encontrar desde a forma ereta e compacta até a forma espreada (BARROS, 1988).

Apesar dos principais centros de diversidade do gênero *Anacardium* se localizarem na Amazônia e no planalto central do Brasil, trabalhos de avaliação e caracterização do germoplasma disponível ainda são incipientes, destacando-se o estudo de Barros (1991), que fez a caracterização morfológica e isoenzimática por meio de técnicas multivariadas, de parte do Banco Ativo de Germoplasma de Cajueiro (BAG-cajueiro) do Centro Nacional de Agroindústria Tropical. Trabalhos desse tipo fornecem subsídios fundamentais aos programas de melhoramento da espécie, assim como, ao processo de otimização nas atividades de coleta e de conservação dos recursos genéticos, tanto *in situ* como *ex situ*.

O cajueiro é uma planta perene, de ramificação baixa e porte médio cuja copa atinge, no tipo comum, altura média de 5 a 8 metros e diâmetro médio (envergadura) entre 12 a 14 metros. Excepcionalmente atinge até 15 metros de altura e diâmetro superior a 20 metros, dependendo do genótipo e das condições de clima e solo. No caso do cajueiro anão precoce, a

altura média não ultrapassa 4 metros e a envergadura varia entre 6 a 8 metros (BARROS, 1995).

A capacidade produtiva individual é muito variável, com plantas que produzem abaixo de 1 kg até próximo de 180 kg de castanha por safra. O tipo anão caracteriza-se pelo porte baixo, altura inferior a 4 m, copa homogênea, diâmetro do caule e envergadura de copa inferiores ao do tipo comum, precocidade etária, iniciando o florescimento entre 6 e 18 meses (BARROS et al., 1998).

As flores são pequenas, curto-pediceladas, pálidas ou purpurinas (após a fertilização), dispostas em panículas terminais, pedunculadas, ramificadas e bracteadas na parte inferior. Os dois tipos de flores, masculinas (estaminadas) e hermafroditas, variam em quantidade e proporções entre plantas e até mesmo entre panículas de uma mesma planta, com o número de flores por panícula variando normalmente de 200 a 1.600 e a percentagem de flores hermafroditas de 0,5 a 25% do número total de flores (BARROS et al., 1993). O sistema reprodutivo da espécie é predominantemente alogâmico, ou seja, a fecundação é preferencialmente cruzada. No entanto, a presença e a abertura simultânea dos dois tipos de flores na mesma planta e na mesma panícula podem favorecer a autopolinização e, conseqüentemente, a endogamia (BARROS, 1988).

O fruto, a castanha, é um aquênio reniforme que consiste de epicarpo, mesocarpo, endocarpo e amêndoa. O peso é variável, encontrando-se castanhas de 3g a 12g, sendo um dos principais objetivos do melhoramento o aumento deste limite superior. O epicarpo é liso, coriáceo, cinzento ou verde-acinzentado; o mesocarpo é espesso, alveolado, cheio de um líquido chamado LCC (líquido da casca da castanha); a amêndoa, parte comestível da castanha, tem formato de rim, é composta por dois cotilédones brancos, carnosos, oleosos e revestida por uma película pergaminácea (BARROS et al., 1993).

O pedúnculo floral é hipertrofiado, carnoso, suculento e bastante variável em tamanho, peso, forma e cor. É comumente denominado de caju, embora também seja dada esta denominação ao conjunto fruto e pseudofruto (castanha e pedúnculo). Do surgimento do fruto (vingamento) até a completa maturação decorre um período médio de 52 dias. Quanto à vida útil esperada, dados experimentais obtidos de plantas selecionadas adultas (33 a 35 anos) mostraram produções variando de 10,7 kg a 29,7 kg de castanha/safra, nas condições litorâneas do Estado do Ceará (Campo Experimental de Pacajus), ou seja, ainda em plena

atividade reprodutiva, o que permite concluir que pelo menos até 35 anos de idade o cajueiro anão precoce encontra-se em produção econômica (BARROS et al., 1993).

3.1.4. Clima e fenologia

Em decorrência da importância econômica dos produtos do cajueiro, notadamente a amêndoa de castanha de caju (ACC) e o líquido da casca de caju (LCC), a cultura vem sendo explorada em diferentes partes do mundo, caracterizadas pelos tipos climáticos de Köpen: Af, Am, Aw, BSh e BWh (BARROS, 1995).

O cajueiro apresenta resistência à seca, mas apenas em condições de solos profundos e com boa retenção de umidade. O cultivo do cajueiro em regiões de solos rasos e excessivamente arenosos, com precipitações inferiores a 800 mm anuais, apresenta perdas no ano de plantio e reflexos negativos até a fase produtiva, com complicações no florescimento e frutificação (SILVA, 1998).

O cajueiro é explorado em diversos tipos de solos, porém os mais apropriados são os profundos (profundidade nunca inferior a 1,5 metros), bem drenados (não sujeitos a encharcamento e sem camadas impermeáveis), com relevo plano ou suavemente ondulado. São utilizados, preferencialmente, solos com textura arenosa ou franco arenosa. Solos rasos, compactos, baixa drenagem devem ser evitados, pois comprometem o desenvolvimento das raízes (BRAINER, 2006).

Para seu desenvolvimento, o cajueiro exige regime de altas temperaturas, sendo a média de 27°C a mais apropriada. O regime pluviométrico ideal para sua exploração racional situa-se entre 800 e 1500 mm anuais, distribuídos de cinco a sete meses no ano, embora a planta tolere valores tanto abaixo quanto acima desse intervalo. A umidade relativa do ar mais apropriada para a cultura situa-se na faixa entre 70 a 80 % (EMBRAPA, 2010).

O cajueiro, como planta de polinização cruzada e entomófila, tem também o vento como agente polinizador. Em algumas regiões, quando intenso, pode tornar-se prejudicial, pela sua ação sobre as folhas, flores e ramos, causando danos físicos, ou pelos seus efeitos no controle da umidade e ressecamento das folhas novas e flores. Embora os limites de tolerância

não estejam bem estudados, ventos demasiadamente fortes prejudicam a cultura, provocando a queda de flores, bem como o tombamento de plantas jovens. Ventos superiores a 7 m/s danificam a cultura (BARROS, 1995).

Quando o período de floração e frutificação coincide com chuvas constantes, a produção fica bastante prejudicada pelo alto nível de umidade relativa do ar, que favorece a incidência de doenças fúngicas, principalmente a antracnose, o oídio e o mofo preto. Chuvas fortes também contribuem para a queda de flores (SILVA, 1998).

Embora o cajueiro possa se adaptar a altitudes de até 1.000 m, o limite de altitude ideal e recomendado para o plantio dessa cultura é de até 500 m acima do nível do mar (SILVA, 1998). Dada a influência da altitude sobre a temperatura nas proximidades do Equador, são encontrados plantios de cajueiros em altitudes de até 1000 metros. Em latitudes mais elevadas e altitude superior a 170 metros, o rendimento da cultura tem sido negativamente afetado (EMBRAPA, 2012).

No Ceará, os estudos sobre fenologia de cajueiros adultos foram desenvolvidos avaliando-se as diferentes fenofases nos tipos anão precoce e comum. Constatou-se que ambos os tipos apresentam oscilações periódicas nos processos de queda de folhas, fluxo foliar, floração e frutificação. Uma fase de aparente repouso vegetativo evidencia-se de janeiro a abril, coincidindo com o período de maior concentração de chuvas, caracterizada por escassa ou nenhuma emissão foliar. Em seguida, inicia-se o processo de queda de folhas, que ocorre durante todo o ano, acentua-se de modo significativo logo após o período de chuvas intensas. O crescimento vegetativo, que consiste da expansão de internódios com formação simultânea de folhas, inicia-se com grande intensidade logo após a estação das chuvas, coincidindo com o pico de queda de folhas e prolonga-se de forma atenuada durante toda a estação seca. A floração e frutificação ocorrem sempre na estação seca, com predominância de pouca nebulosidade, alta insolação e atenuada umidade relativa do ar (BARROS, 1995).

3.2. Melhoramento e variabilidade genética no cajueiro

O melhoramento genético de plantas e animais no Brasil assume um papel muito importante, porque há forte pressão para o incremento na produção de alimentos, com os objetivos de melhorar o padrão de nutrição do povo brasileiro, especialmente das classes menos favorecidas, ampliar as exportações visando melhorar a balança de pagamento e reduzir a dependência da importação de alimentos e combustíveis. Para atingir estes objetivos, há duas opções: expansão da fronteira agrícola ou identificar as espécies mais viáveis e também as cultivares, dentro de cada espécie mais eficiente para estas condições (RAMALHO et al., 1989).

O melhoramento envolve basicamente três etapas: desenvolvimento de progênies, avaliação de progênies e recombinação dos melhores para dar início ao novo ciclo de melhoramento (BORÉM et al., 2006).

O objetivo básico do melhoramento é a seleção das plantas mais aptas a satisfazer as necessidades do homem. No caso do cajueiro, as baixas produtividades dos pomares (menos de 250 kg de castanha/ha) atualmente no Nordeste, direcionam a seleção prioritariamente para a obtenção de plantas que possibilitem rendimentos superiores a esse patamar. Os clones de cajueiro anão precoce disponíveis, possuem potencial produtivo de 1,3 t de castanha/ha em regime de sequeiro, dependendo da pluviosidade (quantidade e distribuição) e manejo do pomar. O porte da planta, outro caráter importante para implementação de tecnologias pertinentes aos modernos sistemas de cultivo em frutíferas perenes, foi solucionado com os clones do tipo anão precoce. Sendo o objetivo dos programas de melhoramento reduzi-lo ainda mais. Um terceiro caráter visado é o peso do fruto, em razão de existir variação de preços da amêndoa no mercado internacional, em função de seu peso (ARAÚJO et al., 1995).

Na fruticultura moderna é fundamental o uso de plantas de porte baixo, precoces e com alto potencial produtivo (MOHAMED; WILSON, 1984 apud BARROS et al., 2000). O germoplasma do tipo anão precoce facilita práticas de manejo como poda e combate às pragas e doenças, de difícil execução em plantas de porte alto. A uniformidade da copa é importante para um correto ordenamento das plantas na densidade populacional estabelecida para cada

clone, com reflexos positivos para o manejo do pomar e para a produção (BARROS et al., 2000).

Outro caráter de importância é o peso e a qualidade do fruto (castanha), uma vez que a cotação de preços da amêndoa no mercado internacional depende não só da coloração e da integridade (inteiras, bandas, quebradas etc.), que é função do processo industrial, mas também do tamanho que é um atributo genético e, portanto, passível de melhoramento. De um modo geral castanhas com peso superior a 12 g encerram amêndoas que atingem os preços mais elevados. Entretanto, mais importante que o peso em si é a relação peso da amêndoa/peso do fruto, razão pela qual devem-se priorizar plantas com maior rendimento percentual de amêndoa para redução do custo do transporte de casca (BARROS et al., 2000).

O aumento da lucratividade do cajueiro através da maximização do aproveitamento do pedúnculo, notadamente no mercado de frutas, constitui no principal desafio do melhoramento genético, a quem cabe a responsabilidade de gerar clones que propiciem, além de amêndoas que atendam às especificidades da indústria e dos consumidores, pedúnculos que satisfaçam aos mais diferentes paladares, de forma a conquistar os mercados das regiões mais desenvolvidas e economicamente mais prósperas do País (BARROS et al., 2002).

Recentemente, tem sido utilizada extensivamente a seleção entre e dentro de progênes de meios-irmãos, principalmente em função da facilidade prática de obtenção desse tipo de progênie (GONÇALVES et al., 1997).

Não obstante o uso do método de seleção recorrente de famílias de meios-irmãos ser atualmente o método mais empregado no melhoramento do cajueiro, pela sua praticidade, a utilização da hibridação para a exploração da heterose apresenta-se como uma estratégia de grande potencial e deve ser explorada, apesar da baixa porcentagem de sucesso no pegamento dos cruzamentos, em torno de 5% apenas. Entretanto, com a possibilidade de propagação vegetativa no cajueiro, o vigor híbrido presente nas novas combinações, é capitalizado em sua totalidade, logo na primeira geração, pela seleção e clonagem dos indivíduos superiores (CAVALCANTI; BARROS, 2009).

A distância geográfica como indicadora de divergência genética tem recebido críticas, por se tratar de critérios que quantificam a diversidade existente entre as populações, e que, em muitos casos não se verifica relação entre diversidade genética e distância

geográfica. A análise multivariada fornece coeficientes de distância genética entre os genótipos. Nesse conceito, parte-se da hipótese de que quanto maior a distância genética entre dois genótipos, maiores são as chances de combinações mais promissoras (CRUZ; CARNEIRO 2003).

Linhagens que possuem grande número de alelos em comum para um determinado caráter, são designadas como similares e inadequadas para produzir cruzamentos superiores. Contrariamente, linhagens divergentes com diferenças na frequência dos locos considerados podem ser apropriadas para cruzamentos (CHIORATO, 2004).

O programa de melhoramento genético do cajueiro tem alcançado excelentes resultados nas últimas décadas. No entanto, o emprego das técnicas convencionais de melhoramento em plantas perenes é dificultado por uma série de fatores, como por exemplo: longo período juvenil e tempo necessário para avaliações, alta heterozigosidade dos genótipos, efeitos ambientais expressivos, além da necessidade de grandes áreas experimentais. Uma ferramenta importante para auxiliar na superação desses problemas é a seleção assistida por marcadores moleculares (SAM), que consiste na integração de informações da genética molecular com a seleção fenotípica e se constitui em uma das mais potentes estratégias para o melhoramento de plantas (LANDE; THOMPSON, 1990 apud CAVALCANTI; BARROS 2009).

A floresta nordestina, onde se encontra inserida a maior parte dos cajueiros naturais, tem sofrido grande devastação desde a época da colonização, mais precisamente nos 300 anos após o descobrimento do Brasil, sendo considerado de extrema importância do ponto de vista biogeográfico e ambiental, com impactos na fitofisionomia e nas condições ecológicas. Não obstante o efeito devastador das queimadas, o enorme consumo de madeira como fonte de combustível durante séculos e mais recentemente para atender às necessidades da navegação fluvial, ferrovias e moradias, também tem apresentado impactos consideráveis, desencadeando um processo de desertificação assustador na região, com perdas imensuráveis da biodiversidade. Esse quadro trouxe graves consequências ao cajueiro, reduzindo as populações e, conseqüentemente, sua variabilidade. Os impactos ambientais decorrentes dessa devastação são imensuráveis e, a exemplo de outras fruteiras, além da perda de variabilidade, é também bastante preocupante o desaparecimento de espécies animais que dependem de seus frutos para sobreviverem (CAVALCANTI, 2002).

A expansão do agronegócio caju tanto na Região Nordeste como em outras regiões, busca constantes aumentos de produtividade e redução dos custos de produção, o que implica necessariamente na ampliação da variabilidade genética do cajueiro, para possibilitar a obtenção de clones mais produtivos e com adaptação aos diferentes agroecossistemas (PAIVA et al., 2003).

O sucesso do processo de seleção de clones depende da variabilidade genética existente na população base. Nessa etapa a caracterização molecular e conhecimento da diversidade genética da população são indispensáveis, pois identificam genitores que proporcionam combinações híbridas que resultam em novos genótipos com maior potencial produtivo, vigor e resistência, explorando-se melhor a heterose (CAVALCANTI et al., 2000; CAVALCANTI et al., 2003).

O primeiro passo para o estabelecimento ou o enriquecimento da variabilidade genética disponível de populações de um programa de melhoramento populacional é a realização de um estudo detalhado da variabilidade genética disponível em linhagens e outros acessos, visando um planejamento de cruzamentos divergentes e, conseqüentemente, o estabelecimento de populações segregantes com variabilidade genética suficiente, bem como a produção de híbridos experimentais (CERQUEIRA et al., 2004).

A seleção de clones é uma etapa do melhoramento das plantas de propagação vegetativa utilizada tanto após a introdução de germoplasma como quando a hibridação for o processo adotado. O sucesso com esta metodologia depende da presença de indivíduos superiores para a formação dos clones que entrarão no processo de competição. Assim, o êxito do processo de seleção de clones depende da variabilidade genética existente na população base, nessa etapa o conhecimento da diversidade genética da população é indispensável, pois identifica genitores que proporcionam combinações híbridas com maior chance de explorar a heterose (CAVALCANTI et al., 1997; CAVALCANTI et al., 2000; CAVALCANTI et al., 2003), gerando indivíduos mais vigorosos e produtivos.

Além dos clones CCP 06, CCP 76, CCP 09 e CCP 1001, lançados a partir da década de 80, novos clones comerciais foram disponibilizados: Embrapa 50, Embrapa 51, BRS 189, BRS 226, BRS 253 e BRS 265, todos de cajueiro anão precoce; BRS 274, primeiro clone de cajueiro comum; e BRS 275, clone híbrido anão x comum, proporcionando aos

produtores, alternativas para a exploração desta cultura em outros ecossistemas (CAVALCANTI; BARROS, 2009).

3.2.1. Clones comerciais da Embrapa Agroindústria Tropical

CCP 06 - Esse clone foi selecionado em 1979, a partir da planta matriz de cajueiro CP 06 (Cajueiro de Pacajus), do lote de plantas do tipo anão precoce, introduzidas por sementes coletadas no Município de Maranguape, CE, em 1956. A maior produção registrada para a planta matriz foi de 25 kg de castanhas, em solo arenoso de baixa fertilidade, sem correção ou fertilização e nem controle de pragas. Esse clone foi lançado para o plantio comercial no ano de 1983. O clone apresenta características das plantas de porte baixo, altura média de 2,11 m e diâmetro médio da copa de 4,52 m, no sexto ano de idade. Essas características são peculiares ao tipo de cajueiro anão precoce. Atualmente, esse clone é bastante utilizado como fornecedor de sementes para a formação de porta-enxerto (BARROS et al., 1984; BARROS et al., 1988; ALMEIDA et al., 1993 e BARROS et al., 2000).

CCP 76 - Clone obtido no ano de 1979, a partir da planta matriz de cajueiro CP 76, proveniente do mesmo lote da CP 06, também avaliada por 15 anos. A maior produção registrada pela planta matriz foi de 22 kg. Esse clone foi lançado para o plantio comercial no ano de 1983. Apresenta plantas de porte baixo, altura média de 2,68 m e diâmetro médio da copa de 4,98 m no sexto ano de idade. Essas características são peculiares ao tipo de cajueiro-anão precoce. A exploração comercial desse clone vem sendo feita tanto em cultivo de sequeiro como irrigado, com aproveitamento do pedúnculo para o mercado de mesa, e da castanha para o mercado de amêndoa (BARROS et al., 1984; BARROS et al., 1988; ALMEIDA et al., 1993; BARROS et al., 2000).

CCP 1001 – O clone é oriundo da enxertia de planta matriz do cajueiro CP 1001, proveniente do mesmo lote da CP 06, cuja maior produção foi de 25 kg de castanha. Esse clone foi lançado para o plantio comercial no ano de 1987. As características das plantas são as seguintes: porte baixo, altura média de 2,78 m e diâmetro médio da copa de 5,03 m no sexto ano de idade. Essas características são peculiares ao tipo de cajueiro-anão precoce. O cultivo desse clone sob irrigação favorece o crescimento morfológico das plantas, em detrimento da

produção de castanha (BARROS et al., 1984; BARROS et al., 1988; ALMEIDA et al., 1993; BARROS et al., 2000).

EMBRAPA 50 - Clone resultante de uma seleção fenotípica individual, dentro de progênes obtidas do cruzamento entre o clone CP 06 (anão precoce) e a planta matriz CP 07 (cajueiro comum), seguida de avaliação clonal dos genótipos selecionados, no Campo Experimental de Pacajus, CE. Esse clone foi lançado para o plantio comercial, em cultivo de sequeiro, no Estado do Ceará, no ano de 1996. Apresenta plantas de porte baixo, altura média de 3,41 m no sexto ano de idade, diâmetro médio da copa de 7,67 m, no espaçamento de 7 x 7 m, em sistema quadrado, com 204 plantas/ha. Pelas suas características, o clone é recomendado para a exploração da castanha (BARROS et al., 2000 apud PINHEIRO 2007).

EMBRAPA 51 - Obtido pela seleção fenotípica individual dentro da progênie policruzada da planta matriz P 500E, seguida da avaliação clonal, no Campo Experimental de Pacajus, CE. Esse clone foi lançado para o plantio comercial, em cultivo de sequeiro, no Estado do Ceará, no ano de 1996. Apresenta plantas de porte baixo, altura média de 3,52 m no sexto ano de idade, diâmetro médio da copa de 7,79 m, no espaçamento de 7 x 7 m, em sistema quadrado, com 204 plantas/ha. Pelas suas características, o clone é recomendado para a exploração da castanha (BARROS et al., 2000, apud PINHEIRO 2007).

BRS 189 - Esse clone origina-se da seleção fenotípica individual dentro de progênes obtidas do cruzamento entre os clones de cajueiro-anão precoce CCP 1001 e CCP 76, seguida de avaliação clonal dos genótipos selecionados, no Campo Experimental de Pacajus, CE. Foi lançado para o plantio comercial, em cultivo irrigado, no Estado do Ceará, no ano de 2000. Apresenta características das plantas de porte baixo, altura média de 3,16 m no terceiro ano de idade em cultivo irrigado, diâmetro médio da copa de 5,9 m, no espaçamento de 8 x 6 m, em sistema retangular, com 208 plantas/ha, ou 7 x 7 m, em sistema quadrado, com 204 plantas/ha. Pelas suas características, o clone é mais recomendado para o mercado de mesa. O clone BRS 189 é recomendado para o cultivo irrigado (BARROS et al., 2002b apud PINHEIRO 2007).

BRS 226 – O clone teve sua origem resultante da seleção fenotípica da planta matriz de cajueiro-anão número 42 (MPA – 42), na fazenda Caucaia Agroindustrial S/A – CAPISA, localizada no município de Pio IX, Estado do Piauí, seguida de avaliação clonal dos genótipos selecionados na própria região. Esse clone foi lançado para plantio comercial, em cultivo de

sequeiro, na região do semiárido do Estado do Piauí e similar, no ano de 2002. Apresenta características das plantas de porte baixo, altura média de 1,24 m no terceiro ano de idade em cultivo de sequeiro, diâmetro médio da copa de 2,20 m, no espaçamento de 8 X 6 m, no terceiro ano de idade em cultivo de sequeiro, diâmetro médio da copa de 2,20 m, no espaçamento de 8 X 6 m, em sistema retangular, com 208 plantas/ha, em sistema retangular, ou 7 X 7 m, em sistema quadrado, com 204 plantas/ha, o peso da castanha é de 9,75 g em média e o da amêndoa é de 2,72 g (EMBRAPA, 2007).

BRS 253 – O clone de cajueiro anão precoce BRS 253 possui porte médio, altura média de 2,86 m no quarto ano de idade em cultivo de sequeiro e diâmetro médio da copa de 7,15 m. O espaçamento recomendado é de 8 m X 7 m, em sistema retangular, com 178 plantas/ha, ou 8 m X 8 m, em sistema quadrado, com 156 plantas/ha. Produção aproximada de castanhas: 800kg/ha; rendimento industrial médio: 26%. Pesos médios: a) castanha: 10,24 g; b) amêndoa: 2,69 g c) pedúnculo: 91,3 g. Coloração do pedúnculo: vermelha (EMBRAPA, 2011).

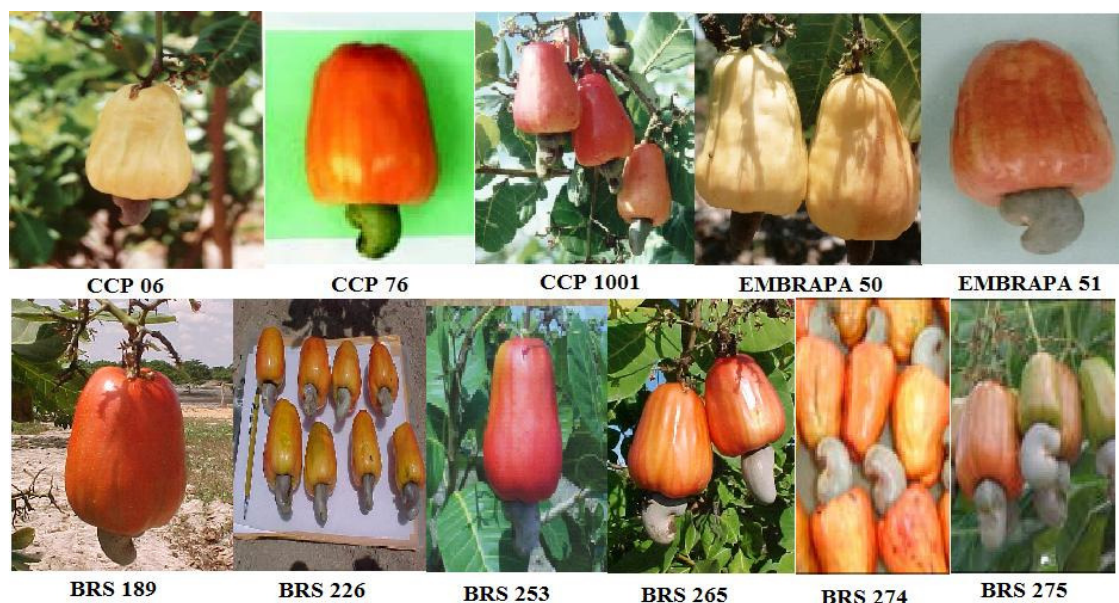
BRS 265 - O clone resultou de seleção fenotípica individual dentro de progênies de polinização livre do clone de cajueiro anão-precoce CCP 76, seguida de avaliação clonal dos genótipos selecionados, no Campo Experimental de Pacajus, CE e na Fazenda Bela Fonte, localizada no município de Severiano Melo, RN. As características das plantas foram avaliadas no quinto ano de idade, em cultivo de sequeiro no município de Pacajus, CE, e são as seguintes: plantas de porte baixo, altura média de 2,55m, diâmetro médio da copa de 5,56m, espaçamento recomendado de 8 m x 6 m, em sistema retangular, com 208 plantas/ha, ou 7 m x 7 m, em sistema quadrado, com 204 plantas/ha (BARROS et al., 2005).

BRS 274 – O clone teve sua origem resultante da seleção fenotípica de uma planta matriz de cajueiro comum em população segregante, na fazenda Uruanã, localizada no município de Beberibe, seguida da clonagem e da avaliação do clone na Fazenda Jacaju, no mesmo município. O espaçamento recomendado é de 12 m x 10 m, em sistema retangular, com 83 plantas/ha, ou 11 m x 11 m, em sistema quadrado, com 83 plantas/ha. Sua produção foi de 1.036 kg de castanha por hectare no sétimo ano de idade das plantas, utilizando-se espaçamento de 10 x 10 m. Os frutos chegam a pesar 16 gramas, com a amêndoa pesando cerca de 3,46 gramas. Pelas suas características, é recomendado para a exploração da castanha e do pedúnculo para a indústria de sucos, em cultivo de sequeiro (PINHEIRO, 2007).

BRS 275 – É o primeiro clone híbrido do Estado do Ceará, teve sua origem resultante de uma seleção fenotípica individual dentro de progênie de polinização controlada, oriunda do cruzamento entre clone de cajueiro-anão precoce e a planta matriz de cajueiro do tipo comum ou gigante. Após a seleção, foi feita a multiplicação vegetativa da planta para a obtenção do clone. A avaliação foi feita em experimento na Fazenda Jacaju. O espaçamento recomendado é de 11 m x 9 m, em sistema retangular, com 101 plantas/ha, ou 10 m x 10 m, em sistema quadrado, com 100 plantas/ha. Sua produção foi de 1.226 kg de castanha por hectare no sétimo ano de idade, utilizando-se espaçamento de 10 x 10 m. Os frutos chegam a pesar 11,4 gramas com a amêndoa pesando cerca de 3,13 gramas. Pelas suas características, o clone é mais recomendado para o plantio comercial (EMBRAPA, 2011).

Na Figura 2, os clones comerciais da Embrapa Agroindústria Tropical por ordem de lançamento.

Figura 2. Clones comerciais da Embrapa Agroindústria Tropical.



3.3. PCR (Polymerase Chain Reaction) Reação em Cadeia da Polimerase

A tecnologia da reação de polimerase em cadeia (“PCR – Polymerase Chain Reaction”) foi concebida por Kary Mullis em meados da década de 80 (MULLIS; FALOONA, 1987; SAIKI et al., 1985). Desde sua concepção, esta tecnologia causou uma verdadeira revolução na biologia tanto na pesquisa visando o entendimento de processos biológicos fundamentais como nas áreas aplicadas envolvendo diagnósticos e melhoramento genético de plantas e animais domésticos. O impacto da PCR e dos métodos dela derivados levaram Kary Mullis a ganhar o prêmio Nobel de medicina no início da década de 90 (FERREIRA; GATTAPAGLIA, 1996).

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é um método que pode ser usado para amplificar grandes quantidades de regiões específicas de DNA posicionados entre dois lados definidos por complementar sequências de dois primers específicos, mas iniciando com pouquíssimas quantidades de amostras de DNA (CAVALCANTI, 2004).

A facilidade, rapidez, versatilidade e sensibilidade da PCR, a torna particularmente poderosa para estudos genético-moleculares envolvendo grande número de indivíduos de qualquer organismo vivo. Muitos métodos tradicionais de clonagem, sequenciamento e análise de polimorfismo de DNA foram acelerados ou substituídos pelo uso das inúmeras derivações da técnica de PCR (FERREIRA; GATTAPAGLIA, 1996).

A técnica de biologia molecular por PCR promove *in vitro* por meio de artifícios de variação de temperatura, o que o organismo realiza naturalmente em condições fisiológicas. A duplicação de cadeias de DNA, envolvendo nucleotídeos, sequências iniciadoras (*primers*) e enzimas polimerases. Assim é possível a obtenção de muitas cópias de uma sequência específica de ácido nucléico, a partir de uma fita molde.

O princípio da PCR envolve três etapas básicas por ciclo, estimuladas pelo calor que são repetidas por várias vezes em ciclos:

Abertura da fita de DNA que servirá de fita molde, por desnaturação térmica (etapa com duração entre 30s e 1 min, a 92°C a 96°C).

Pareamento de oligonucleotídeos sintéticos, que funcionam como iniciadores da reação de polimerização, a cada uma das fitas de DNA molde, à região complementar da fita que sofrerá duplicação (duração entre 30 s a 1min a temperatura entre 58°C e 65°C).

Polimerização, através de uma enzima polimerase, uma das novas fitas de DNA a partir de cada um dos iniciadores, utilizando cada um dos quatro dNTP como substrato da reação de polimerização (duração entre 45s e 1min a 72°C). Cada ciclo é repetido em torno de 60 vezes, e promove a amplificação da região alvo, determinada conforme afinidade das sequências iniciadoras (*primers*) (PORTAL EDUCAÇÃO, 2011).

Marcadores ISSR envolvem a PCR para amplificar regiões entre microssatélites idênticos orientados em direções opostas, ou seja, inversamente orientados. Os iniciadores são construídos a partir das próprias sequências simples repetidas (SSR) proporcionando amplo arranjo de possíveis produtos amplificáveis (SOUFRAMANIEN; GOPALAKRISHNA, 2004).

3.4. Marcadores morfológicos e moleculares

O melhoramento genético está começando a usufruir o conhecimento acumulado com a genética molecular nas últimas décadas. O grande desafio vai ser incorporar essas novas informações de forma aplicada nos programas de melhoramento tradicional. É notório que a tecnologia dos marcadores moleculares tem evoluído de maneira muito rápida nos últimos 15 anos, avançando de maneira surpreendente no conhecimento básico da genética molecular. Este conhecimento básico gerado vem sendo testado, visando sua aplicação nas diferentes etapas do melhoramento genético convencional (BORÉM et al., 2006).

Biotecnologia é definida como qualquer técnica que utilize organismos vivos ou partes, para fazer ou modificar produtos, melhorar plantas ou animais, ou desenvolver microorganismos para usos específicos. De certo modo, o homem tem usado técnicas biotecnológicas desde o início da agricultura, há aproximadamente 12.000 anos. Os primeiros agricultores, por exemplo, no processo de domesticação das plantas e seu ambiente, visando maximizar a utilização de energia solar e transformá-la em grãos, forragens e fibras. Do mesmo modo, quando os nossos antepassados iniciaram a produção de bebidas via

microorganismos que promoviam a fermentação, estavam evidentemente empregando uma técnica biotecnológica (RAMALHO et al., 1989).

Entretanto, com os conhecimentos obtidos nas últimas décadas, especialmente em biologia molecular, vislumbrou-se a aplicação de novas técnicas biotecnológicas na obtenção de novos produtos que o homem antes não imaginava. Por exemplo, muitos cruzamentos que antes eram considerados impossíveis hoje já se mostram perfeitamente exequíveis (RAMALHO et al., 1989).

Até meados da década de 60, os marcadores utilizados em estudos de divergência genética eram controlados por genes associados a caracteres fenotípicos. No entanto, com o advento da Biologia molecular tornou-se possível a manipulação do DNA, que culminou no surgimento de vários tipos de marcadores moleculares, que apresentam uma série de vantagens, comparados com os marcadores fenotípicos tais como: não sofrerem influência ambiental e a possibilidade de utilização dos mesmos em qualquer fase fenológica da planta, assim como a avaliação de inúmeros genótipos em um pequeno espaço de tempo, dentre outras vantagens (DIAS, 2009).

Um marcador molecular é um segmento específico de DNA cuja sequência básica difere para diferentes genótipos (polimorfismo) e portanto, permite diferenciá-los (ZIMMER et al., 2005). São elementos capazes de prever, mapear e caracterizar um fenótipo molecular. São várias as classes de Marcadores Moleculares, dentre elas, os marcadores moleculares ISSR que representam uma das classes mais recentes e foi desenvolvida a partir da necessidade de explorar repetições microssatélites sem a utilização de sequenciamento do DNA (ZIETKIEWICZ et al., 1994; CAIXETA et al., 2006).

Por marcador molecular define-se todo e qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso, como no caso das isoenzimas, ou de um segmento específico de DNA (correspondente a regiões expressas ou não do genoma) (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

A associação de marcadores moleculares ligados a caracteres agronômicos de interesse é uma das mais úteis e efetivas aplicações da biologia molecular para o melhoramento de plantas. As associações são estabelecidas pela detecção de marcadores proximamente ligados ao caráter desejado. Este caráter pode ser controlado por um ou poucos genes, como reações a doenças e algumas características morfológicas distintas como cor da

flor, ou pode ser controlado por vários genes que interagem, ou grupos de genes. Os genes ou grupos de genes que contribuem para caracteres poligênicos, tais como produção, qualidade, arquitetura da planta são conhecidos como “quantitative trait loci” (QTL), ou seja, locos que controlam caracteres quantitativos. Estes locos frequentemente têm efeito individual pequeno e exibem variação contínua devido à existência de vários genes e efeitos ambientais (GELDERMANN, 1975; LANDE; THOMPSON, 1990; UKRAINETZ et al., 2008 apud SANTOS, 2008).

Os marcadores morfológicos são descritores bastante acessíveis na quantificação da diversidade genética quando comparados com técnicas moleculares mais avançadas e vem sendo utilizados na caracterização e avaliação da divergência genética de germoplasma permitindo a orientação dos trabalhos a serem realizados com outros descritores mais sofisticados, como os que utilizam marcadores moleculares. No Brasil a Lei de Proteção de cultivares Nº 9.456 de 1997, estabelece normas para o registro de uma nova cultivar, sendo os descritores oficiais baseados nas características morfológicas (MOK; SCHMIEDICHE, 1998; AUGUSTIN et al., 2000; MELO FILHO et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2000; DAROS et al., 2002; RITSCHEL; HUAMÁN, 2002; PEREIRA et al., 2004).

Diversas técnicas de biologia molecular estão hoje disponíveis para a detecção de variabilidade genética ao nível de sequência de DNA, ou seja, para a detecção de polimorfismo genético. Estas técnicas permitem a obtenção de um número virtualmente ilimitado de marcadores moleculares cobrindo todo o genoma do organismo. Tais marcadores podem ser utilizados para as mais diversas aplicações, tanto no estudo de genética como na prática de melhoramento de plantas (FERREIRA; GATTAPAGLIA, 1998).

O desenvolvimento dos marcadores moleculares apresenta uma grande contribuição para os estudos da genética de populações e melhoramento genético por tornar possível a análise de cada população ou indivíduo de interesse, em um pequeno espaço de tempo, sendo possível a utilização de qualquer forma alélica (fragmento de DNA ou a expressão de uma proteína codificada por ele) originada de um genoma como marcador genético (SOUZA JUNIOR, 2001).

Os marcadores moleculares podem ser utilizados como ferramentas para estudos de diversidade genética entre indivíduos, dentro e entre populações ou espécies relacionadas. (SOUZA, 2008).

No melhoramento, os marcadores podem ser utilizados como “etiquetas” para a identificação de alelos, a fim de que estes possam ser selecionados indiretamente. Além disso, os marcadores também podem ser utilizados para amostrar o genoma de uma espécie qualquer e a partir daí, determinar a diversidade genética de um grupo de indivíduos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Várias técnicas envolvendo marcadores moleculares têm sido empregadas no estudo dos recursos genéticos vegetais. Dentre essas técnicas está o polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição (RFLP); o polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (RAPD); polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados (AFLP); polimorfismo resultante da presença de diferentes números de elementos simples repetidos detectados por meio de marcadores microssatélites ou SSR (Simple Sequence Repeat), e polimorfismos obtidos a partir do sequenciamento de regiões do DNA ribossômico nuclear (nrDNA). Os marcadores moleculares ideais são aqueles que possuem elevado polimorfismo entre dois genótipos, herança co-dominante, distribuídos uniformemente por todo o genoma, facilmente visualizados e estáveis no decorrer das gerações (ZIMMER et al., 2005).

Os marcadores de DNA comumente são baseados em PCR como o RAPD, AFLP ou microssatélites (SSR), no entanto, esses métodos apresentam algumas limitações, tais como a baixa reprodutibilidade dos marcadores RAPD, o alto custo do AFLP e a necessidade do conhecimento prévio das sequências que flanqueiam as sequências repetidas para o desenvolvimento de iniciadores SSR (GUPTA; VARSHNEY, 2000).

A técnica de RFLP (BOTSTEIN et al, 1980) baseia-se na fragmentação da molécula de DNA pela ação de enzimas de restrição. Os fragmentos assim originados são separados por tamanho em eletroforese com gel de agarose e posteriormente são transferidos do gel para uma membrana de celulose, onde são hibridizados com sondas marcadas radioativamente ou a frio (quimicamente). A visualização dos marcadores RFLPs é feita por autoradiografia, onde um filme de raio X é marcado pela radiação ou emissão de luz pela sonda.

Provavelmente, a principal vantagem da técnica de RFLP está na possibilidade de se estudar para cada loco genótipos homocigotos e heterocigotos, permitindo a análise detalhada da ação gênica e interação entre alelos para fins de mapeamento de características quantitativas.

Como limitações da técnica de RFLP podem ser citados: o processo de obtenção dos marcadores que é muito intensivo e trabalhoso, o que pode muitas vezes limitar seu uso, assim como, a necessidade de construção de uma biblioteca de sondas, embora existam bibliotecas disponíveis para as principais culturas (WILLIAMS et al., 1990).

A técnica de SSR-PCR também chamado de análise de microssatélite possui alvo específico e sequências simples de DNA, entre 2-6 pares de bases. Estas repetições são conhecidas e os SSRs ou microssatélites são frequentemente encontradas em genomas eucarióticos (CAVALCANTI, 2004).

Por serem codominantes, os microssatélites, geram dados similares àqueles gerados por isoenzimas, porém com um número de alelos e uma heterozigosidade muito maior. Microssatélites foram empregados com sucesso na discriminação entre acessos e cultivares de bancos de germoplasma, detectando duplicações, mistura de sementes, deriva e cruzamentos não controlados (OLUFOWOTE et al., 1997; MELO, 2000, SOUZA, 2002).

A limitação do uso dessa técnica se deve ao alto custo relacionado ao desenvolvimento dos *primers* que envolve etapas como: construção de uma biblioteca enriquecida, seleção e sequenciamento de clones positivos, desenho dos *primers*, otimização dos *primers* desenvolvidos e validação dos mesmos em populações (ZUCCHI, 2002).

RAPD é basicamente uma variação do protocolo de PCR, com duas características distintas:

- (1) utiliza um *primer* único ao invés de um par de *primers*.
- (2) o *primer* único tem sequência arbitrária e, portanto, sua sequência alvo é desconhecida.

Para que haja amplificação de um fragmento RAPD no genoma analisado, duas sequências de DNA complementares ao *primer* arbitrário devem estar suficientemente adjacentes (< 4000 pares de bases) (FERREIRA; GATTAPAGLIA, 1996).

Segundo Archak et al. (2003), RAPD e ISSR são opções atrativas de marcadores se comparado a técnicas sofisticadas porque eles são fáceis, rápidos, simples e econômicos, ambos não requerem estudos de conhecimento prévio da informação sequencial genética.

ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) é uma nova técnica de marcadores moleculares utilizada desde 1994. Esses marcadores são semiarbitrários amplificados por PCR na presença de um *primer* complementar para um microsatélite alvo (BORNET; BRANCHARD, 2001). Eles representam uma das classes mais recentes de marcadores e foi desenvolvida a partir da necessidade de explorar repetições microsatélites sem a utilização de sequenciamento do DNA (ZIETKIEWICZ et al., 1994; CAIXETA et al., 2006).

A técnica de ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) foi desenvolvida por GUPTA et al. (1994) em estudos com plantas cultivadas. Essa técnica é baseada no método PCR, cujos produtos são sequências de diferentes tamanhos localizadas entre duas regiões repetidas de microsatélites idênticas, e orientadas em direções opostas. A técnica ISSR utiliza um único *primer* longo, que possui de 16 a 25 pb de comprimento, não ancorado ou ancorado na extremidade 5' ou 3' por dois ou três nucleotídeos (ZIETKIEWICZ et al., 1994; WOLFE et al., 1998). A ancoragem serve para fixar o pareamento do *primer* em uma única posição no sítio alvo, o que resulta em baixo nível de pareamento inespecífico.

Os marcadores ISSR são reconhecidos como menos polimórficos, contudo evitam problemas que os alelos nulos dos microsatélites poderiam trazer para uma análise desejada, além disso, eles não requerem informações prévias de sequências de DNA da espécie alvo e produzem fragmentos com grande reprodutibilidade, quando comparados a outros marcadores com base em PCR não específico como RAPD (WOLFE; LISTON, 1998), além de requererem pouca infraestrutura de laboratório para execução dos experimentos (SOUZA et al., 2008).

Desta maneira os marcadores ISSR apresentam uma série de vantagens, tais como:

- a) Requerem pouca infraestrutura em termos de equipamento de laboratório para execução dos experimentos;
- b) A amplificação não requer informações de sucessão do genoma e de padrões altamente polimórficos;
- c) As sequências alvo dos ISSRs são abundantes ao longo do genoma de eucariontes e evoluem rapidamente;
- d) É um marcador molecular universal podendo ser utilizado em diversas espécies;

e) Não necessita de um sistema de resolução sofisticado e laborioso, podendo ser utilizado o gel de agarose com brometo de etídio.

Entretanto, os marcadores ISSR apresentam algumas limitações quando comparado com marcadores co-dominantes como os microssatélites, a principal limitação dos marcadores ISSR é a não diferenciação entre indivíduos homozigotos e heterozigotos.

As fontes de variabilidade e o nível de polimorfismo detectado através de marcadores ISSR são decorrentes dos seguintes fatores:

a) Elevada taxa de mutação das sequências microssatélites, alvos do anelamento do *primer* empregado;

b) Natureza do *primer* utilizado, isto é, sequência repetitiva ou motivo, existência ou não de ancoragem, assim como localização (5' ou 3');

c) Extensão e composição da sequência de ancoragem;

d) Método de resolução utilizado, isto é, gel desnaturante de poliacrilamida (PAGE), em combinação com marcação radioativa ou coloração com nitrato de prata ou gel de agarose, corado com brometo de etídio (REDDY et al., 2002).

O uso de marcadores moleculares pode tornar mais eficiente a seleção, sobretudo a precoce, e com isso aumentar o ganho genético por unidade de tempo. Neste contexto, os caracteres de difícil avaliação, que requerem idade adulta e procedimentos demorados de avaliação fenotípica, fazem com que o melhoramento de espécies florestais e frutíferas seja a área onde o uso efetivo desta tecnologia tende a ter as melhores perspectivas de sucesso (SANTOS et al., 2008).

A tecnologia de marcadores moleculares viabiliza a caracterização genética de grande número de genótipos por meio de procedimentos relativamente simples e rápidos. Com o auxílio dessas técnicas serão possíveis progressos intensos na seleção de genitores com capacidade específica e geral de combinação para a síntese de populações superiores. Da mesma maneira, este tipo de tecnologia poderá auxiliar na detecção de prováveis marcadores associados a genes de interesse agrônomico. Uma vez identificados e mapeados esses marcadores podem ser utilizados em programas de seleção assistida por marcadores moleculares (SAM), reduzindo bastante o tempo para a obtenção de uma nova cultivar.

A utilização de marcadores moleculares para o conhecimento da diversidade genética entre um grupo de plantas é importante no melhoramento, sobretudo para identificar combinações híbridas de maior heterozigose e de maior efeito heterótico, proporcionando indivíduos mais vigorosos e produtivos (PINHEIRO, 2007).

A caracterização molecular de diversidade genética no germoplasma pode fornecer dados úteis para auxiliar o melhorista na seleção dos genitores de populações básicas ao estabelecer programas de melhoramento. Tais populações são estabelecidas pelo cruzamento de materiais superiores, objetivando-se frequentemente a maximização da distância genética com a finalidade de recombinar genes ou complexos gênicos em novas combinações gênicas favoráveis. Características morfofisiológicas podem ser utilizadas para isso (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1996).

Como os marcadores moleculares possibilitam a quantificação da similaridade genética entre genótipos e, conseqüentemente, a estruturação da divergência genética por meio do seu emprego, é possível organizar grupos de indivíduos de acordo com a similaridade entre eles. Medidas da distância ou similaridade genéticas são facilmente obtidas utilizando-se coeficientes como os de Jaccard e Concordância Simples, entre outros, a partir da matriz de dados moleculares, sendo possível o uso de marcadores dominantes e codominantes (SOUZA, 2001).

Entretanto, marcadores moleculares geram uma grande quantidade de caracteres adicionais, que, combinados com características fenotípicas, fornecem um quadro mais completo para o agrupamento de genótipos e o planejamento de cruzamentos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1996).

3.5. Utilização de marcadores moleculares na cultura do cajueiro

Várias pesquisas foram desenvolvidas para a obtenção de genótipos de cajueiro que permitissem não só o aumento da produtividade, como também a melhoria da qualidade da castanha para a indústria e o aproveitamento do pedúnculo. Diversos clones e genótipos superiores foram obtidos pelo programa de melhoramento genético do cajueiro da Embrapa Agroindústria Tropical. Na fase atual, a caracterização desses materiais através da utilização de marcadores moleculares torna-se imprescindível, não só para a sua identificação, mas principalmente, para avaliar a divergência genética, informação importante no direcionamento deste programa (PINHEIRO, 2007).

A utilização de marcadores moleculares na caracterização de recursos genéticos de cajueiro ainda é bastante restrita, se limitando a um pequeno número de trabalhos conduzidos em coleções de bancos de germoplasma da Tanzânia e da Índia. O primeiro desses estudos foi realizado por Mneney et al. (2001) que avaliaram a divergência genética baseada em marcadores RAPD de parte da coleção do banco de germoplasma do Cashew Development Centre (Tanzânia), constituído por acessos provenientes da Tanzânia, Sri Lanka, Moçambique, Índia, Brasil e Cook Islands. Os autores verificaram que os acessos brasileiros formaram um grupo separado e mais distinto em relação aos das demais procedências (PESSONI, 2007).

CAVALCANTI (2004), Cavalcanti e Wilkinson (2007), usando marcadores moleculares AFLP e SSR elaboraram os dois primeiros mapas genéticos do cajueiro, sendo um para cajueiro comum e o outro para cajueiro anão precoce.

Croxford et al. (2006), relataram o desenvolvimento de 21 pares de *primers* microssatélites, a partir de uma biblioteca genômica não enriquecida de *A. occidentale*. A viabilidade destes *primers* foi testada em uma população de 49 indivíduos de cajueiro e a maioria amplificou dois ou três alelos distintos, com um deles produzindo um máximo de cinco alelos.

Archak et al. (2003a) compararam a eficiência e utilidade de três tipos de marcadores moleculares (RAPD, ISSR e AFLP) e de descritores morfológicos na medida da variação e discriminação genotípica de germoplasma de caju. Os autores verificaram que, a partir de cada um dos três tipos de marcadores utilizados, foi possível discriminar os 19

acessos avaliados, com maior eficiência para os marcadores AFLPs. Os mesmos autores utilizaram marcadores RAPD e ISSR na caracterização de 35 variedades elites, sendo 24 seleções e 11 híbridos, desenvolvidos por diferentes centros de pesquisa da Índia. A partir de 94 locos amplificados foi possível diferenciar, com alto grau de certeza todos os genótipos. Por outro lado, os resultados evidenciaram que a base genética entre eles é muito estreita (ARCHAK et al., 2003b).

Para o maior aproveitamento dos marcadores moleculares nos estudos de genética e suas aplicações no melhoramento de plantas tornam-se necessários o conhecimento de algumas técnicas para a avaliação e correta interpretação dos resultados obtidos. Com isso, as análises multivariadas apresentam-se como uma importante ferramenta para auxiliar os melhoristas na identificação de genótipos superiores e interpretação dos resultados obtidos a partir das análises realizadas com marcadores moleculares (DIAS, 2009).

3.6. Divergência e diversidade genética

O conhecimento relacionado à diversidade genética das espécies traz duas vantagens a um programa de melhoramento. A primeira diz respeito à heterogeneidade genética que limita a vulnerabilidade das espécies às pragas e doenças e a segunda está relacionada ao fornecimento de um amplo suprimento de variação alélica que pode ser usada para criar novas combinações de genes favoráveis (VAN ESBROEK; BOWMAN, 1998).

A diversidade genética entre um grupo de progenitores tem sido avaliada com o objetivo de identificar as combinações híbridas de maior efeito heterótico e maior heterozigose, de tal forma que, em suas populações segregantes, se tenha maior possibilidade de recuperação de genótipos superiores. A avaliação da divergência genética, com base em evidências científicas, também é de grande importância no contexto da evolução das espécies, uma vez que provê informações sobre recursos disponíveis e auxilia na localização e no intercâmbio dos mesmos (CRUZ et al., 1997).

A dissimilaridade genética possui uma importância fundamental na escolha de genótipos a serem utilizados como progenitores, já que a divergência genética entre os parentais é um indicativo da expressão heterótica nas progênies (FALCONER, 1981 apud CAMBUI, 2007). Do mesmo modo, a divergência genética é um dos mais importantes

parâmetros em programas de melhoramento genético de plantas, principalmente quando se busca por hibridações, no qual se procura por genitores que apresentem maior grau de heterose em cruzamentos (CARVALHO et al., 2003).

Atualmente existem muitos métodos disponíveis para o estudo da diversidade genética, seja em avaliações e acessos de bancos de germoplasma, cultivares melhoradas ou populações. Esses métodos podem ser aplicados na análise de dados e pedigree, dados morfológicos, dados de performance agrônômica, dados bioquímicos e dados moleculares baseados na análise de DNA. Entretanto, trabalhos envolvendo espécies perenes tropicais, ainda são relativamente reduzidos e, normalmente associados a algumas poucas espécies de grande expressão econômica mundial (PESSONI, 2007).

Em programas de melhoramento, combinações promissoras de parentais a “priori”, geneticamente divergentes, possibilitam a obtenção de populações segregantes com ampla variabilidade genética, o que aumenta a probabilidade de recuperação de linhagens superiores para as características de interesse. Assim, as análises de divergência genética têm se constituído num importante instrumento, auxiliando os melhoristas na quantificação da variabilidade genética e na identificação das características com maior contribuição para a dissimilaridade estimada (CRUZ; REGAZZI, 1994).

A divergência genética tem uma estrutura complexa multidimensional com agrupamentos baseados em dados de progênies, marcadores genéticos, caracteres qualitativos ou quantitativos que podem diferir, porque todos os tipos de dados requerem suas próprias medidas de divergência genética, já a diversidade genética, não é atribuída ao acaso nas populações de plantas, pois possui uma estrutura que, geralmente, pode ser resumida em um modelo hierárquico de uma árvore, a qual pode ser construída como um resultado do processo natural de evolução, domesticação e melhoramento. A árvore da diversidade genética pode ser construída por ramificações ou por agrupamentos. Para o propósito de agrupamento, os dados morfológicos e/ou moleculares representam a sustentação da diversidade genética total (NETTO et al., 2004).

Os estudos de divergência genética, conduzidos por meio de marcadores moleculares de DNA, utilizam comumente, variedades de espécies autógamas (homozigotas) linhagens endogâmicas, ou clones de espécies alógamas. Nessas situações há uniformidade genética dentro das populações, o que possibilita que um único indivíduo represente

geneticamente a população. No caso de populações geneticamente heterogêneas, como aquelas mantidas por polinização livre, ou que apresentem elevadas taxas de fecundação cruzada, não há uniformidade genética dentro da população. Nesse caso, o estudo da variabilidade genética com marcadores de DNA pode ser feito por meio de amostras de plantas individuais, em um número que possibilite a caracterização da variabilidade genética dentro da população ou por meio de amostras compostas (bulk), que consiste na mistura das amostras individuais (WADT, 1997).

O principal centro de diversidade do gênero *Anacardium* é a Região Amazônica (florestas úmidas, matas de galeria e cerrado), com um centro secundário de diversidade nos cerrados do Planalto Central do Brasil. A maior diversidade da espécie *Anacardium occidentale* L. está no Nordeste brasileiro, onde pode ser encontrada em diversos ecossistemas, concentrando-se nas Zonas Costeiras do Nordeste, como parte da vegetação de praias, dunas e nas formações de restinga (LIMA, 1988; FROTA; PARENTE, 1995).

3.7. Técnicas multivariadas

A divergência genética tem sido avaliada por meio de técnicas biométricas, baseadas na quantificação da heterose, ou por processos preditivos. Dentre os métodos fundamentados em modelos biométricos, que se destinam à avaliação da divergência dos genitores, citam-se as análises dialélicas, que avaliam tanto a capacidade específica quanto à heterose manifestada nos híbridos (CRUZ; REGAZZI, 1997).

Nos dialelos é necessária a avaliação de p progenitores e de todas as suas combinações híbridas ($p(p - 1)/2$). Assim, quando o valor de p é elevado, a obtenção do material experimental pode ser impraticável, e o estudo inviabilizado. Por dispensarem a obtenção prévia das combinações híbridas, os métodos preditivos de divergência entre genitores têm merecido considerável ênfase. São métodos preditivos aqueles que tomam por base as diferenças morfológicas, fisiológicas etc, apresentadas pelos genitores na determinação da divergência, que é geralmente quantificada por uma medida de dissimilaridade (Por exemplo: distâncias Euclidianas ou de Mahalanobis). A inferência com base na diversidade ecogeográfica também é exemplo de método preditivo da heterose.

Como medidas de dissimilaridade existentes tem-se a distância Euclidiana e a distância generalizada de Mahalanobis (D_2). A distância de Mahalanobis apresenta sensível vantagem sobre a Euclidiana, que é a de levar em consideração o grau de correlação entre os caracteres (GATTO, 2005).

Nos estudos de divergência genética destinados à identificação de progenitores para hibridação, tem sido de uso mais rotineiro a distância Euclidiana média ou a distância generalizada de Mahalanobis sendo esta última, a preferida, entretanto possível de ser estimada apenas quando se dispõe da matriz de covariâncias residuais, estimada a partir de ensaios experimentais com repetições.

A distância Euclidiana média pode ser obtida por meio das observações individuais dos progenitores, sem a necessidade de experimentos que envolvam delineamentos experimentais. (CRUZ; REGAZZI, 1997).

Na predição da divergência genética, vários métodos multivariados podem ser aplicados. Dentre eles, citam-se a análise por componentes principais e por variáveis canônicas e os métodos aglomerativos. A escolha do método mais adequado tem sido determinada pela precisão desejada pelo pesquisador, pela facilidade da análise e pela forma como os dados foram obtidos (CRUZ; REGAZZI, 1997).

Estudos envolvendo várias características simultaneamente vêm se tornando cada vez mais importantes ao melhoramento vegetal. A confiabilidade e a abrangência das análises multivariadas são alguns dos fatores que as tornam de uso cada vez mais disseminado na análise dos dados pelos melhoristas, principalmente na discriminação dos materiais superiores, na quantificação da dissimilaridade genética dos materiais de interesse, na formação de grupos de materiais genéticos, semelhantes entre si e divergentes uns em relação aos outros, visando cruzamentos, seleção dos melhores materiais e a avaliação das relações existentes entre as características estudadas (LUZ et al., 2005).

De posse dos conhecimentos proporcionados pelas técnicas multivariadas o melhorista se depara com várias informações úteis para auxiliar no desenvolvimento de novas cultivares. No entanto, em programas de melhoramento genético é verificada uma grande quantidade de genótipos a serem selecionados, com isso a utilização de ferramentas que auxiliem na identificação de genótipos superiores, se tornam necessárias na condução do processo de seleção (DIAS, 2009).

Os métodos aglomerativos diferem dos demais, em razão de dependerem fundamentalmente de medidas de dissimilaridade estimadas previamente, como a distância Euclidiana ou a distância generalizada de Mahalanobis, dentre outras. Já no método dos componentes principais, e também no da análise canônica, o objetivo é avaliar a similaridade dos genitores por intermédio de uma dispersão gráfica, em que se considerem, em geral, dois eixos cartesianos (CRUZ; REGAZZI, 1997).

Para a formação dos grupos, as técnicas utilizadas são os métodos hierárquicos, como o do Vizinho mais Próximo, cujas delimitações de grupos são estabelecidas por método visual por meio de dendrogramas, e o de Otimização proposto por Tocher, onde a média das medidas de dissimilaridade dentro de cada grupo deve ser menor que as distâncias entre quaisquer grupos. Nos métodos hierárquicos, os progenitores são agrupados por um processo que se repete em vários níveis até que seja estabelecido o dendrograma ou o diagrama de árvore. Neste caso, não há preocupação com o número ótimo de grupos, uma vez que o interesse maior está na “árvore” e nas ramificações que são obtidas. As delimitações podem ser estabelecidas por um exame visual do dendrograma, em que se avaliam pontos de alta mudança de nível, tornando-os em geral delimitadores do número de progenitores para determinado grupo (CRUZ; RAGAZZI, 1997).

Nos métodos de otimização realiza-se a partição do conjunto de progenitores em subgrupos não-vazios e mutuamente exclusivos por meio da maximização de alguma medida preestabelecida. Um dos métodos de otimização mais comumente empregados no melhoramento genético é o proposto por Tocher (RAO 1952 apud CRUZ; RAGAZZI, 1997).

Terzopoulos e Bebeli (2008), estimando a divergência genética em genótipos de fava (*Vicia fava* L.) utilizando marcadores ISSR, observaram a presença de 192 bandas, nas quais 190 foram polimórficas. Para a estimativa da divergência genética entre os indivíduos testados, os autores utilizaram o conteúdo de informação polimórfica (PIC), a fórmula descrita por De Riek et al. (2001), já para o agrupamento dos genótipos foi utilizada a distância média entre grupos (UPGMA) fundamentada na distância de Nei. Os autores verificaram o agrupamento dos genótipos em 20 grupos indicando a alta variabilidade nos genótipos testados.

Barros (1991) analisou dados morfométricos por meio de técnicas multivariadas envolvendo 67 acessos de *Anacardium occidentale* do Banco Ativo de Germoplasma de cajueiro (BAG caju) da Embrapa Agroindústria Tropical, sendo 10 acessos do cajueiro anão precoce, 27 do tipo comum, coletados em diversos municípios do Ceará, 9 introduzidos da Índia, 11 da Venezuela e 10 do Estado de São Paulo. O autor avaliou 30 caracteres morfológicos entre características quantitativas e qualitativas ou multicategóricas. As estimativas de divergência foram obtidas por meio da técnica de componentes principais e agrupamento pelo Método de Otimização de Tocher, baseado em Distâncias Euclidianas médias padronizadas. De acordo com o autor, os dois primeiros componentes principais explicaram 44,6% da variância contida nos dados originais, enquanto a inclusão do terceiro componente ampliou este valor para 57,09%. Desta maneira a projeção gráfica dos acessos nos espaços bi ou tridimensionais, apresentaram elevadas taxas de distorção, prejudicando a confiabilidade nos resultados e nas interpretações subsequentes. No entanto, a análise de agrupamento de Tocher alocou os 67 acessos em 12 grupos diferentes. Sete dos dez acessos de cajueiro anão foram alocados juntos, constituindo um grupo distinto em relação aos demais acessos. Enquanto a maior parte dos acessos coletados no Ceará foi distribuído em 10 grupos diferentes, todos os acessos da Índia, Venezuela e Valinhos, foram alocados em um único grupo. Desta forma, Barros (1991) concluiu que os resultados reforçam a hipótese de que o Nordeste brasileiro seja um importante centro de diversidade de *Anacardium occidentale* e que o cajueiro anão precoce constitui uma forma ou ecótipo da espécie *A. occidentale*.

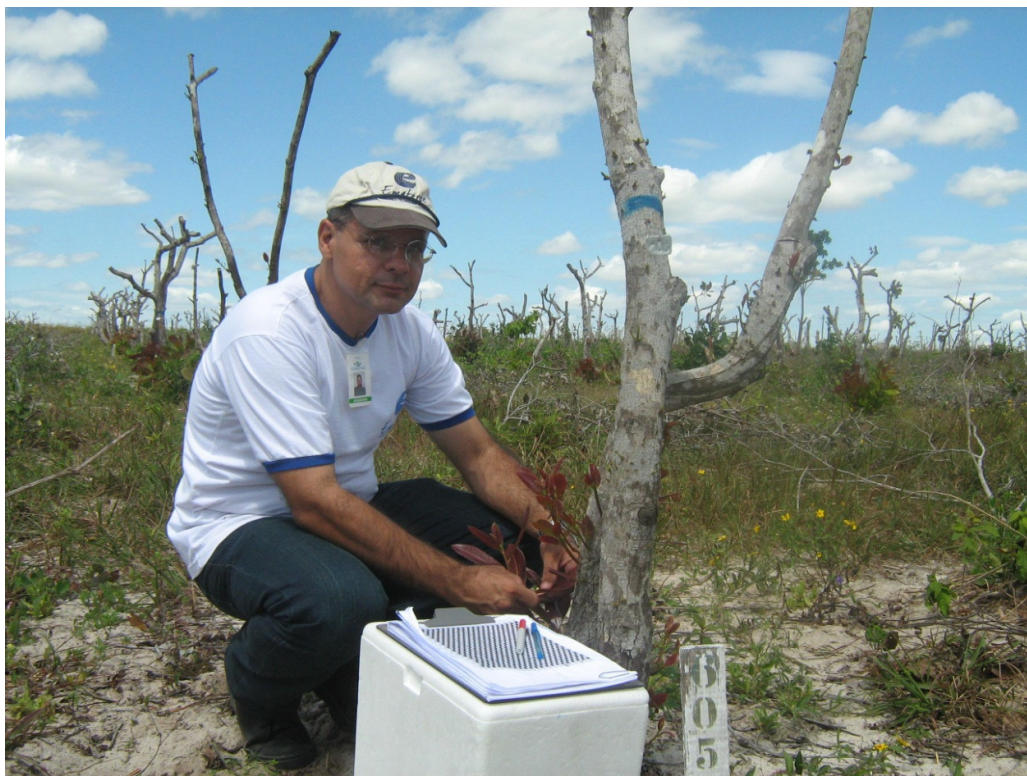
4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material Vegetal

O material vegetal correspondeu a progênies de cajueiros (*Anacardium occidentale*. L.) oriundos da coleta de sementes de plantas nas fazendas Itaueira (Canto do Buriti - Piauí) e Capisa (Pio IX – Piauí), instaladas no Campo Experimental de Pacajus - Ceará, pertencente à Embrapa Agroindústria Tropical cujas coordenadas geográficas são: 4°10' S e 38°27' W e a altitude de 60m acima do nível do mar.

O experimento recebeu tratamentos culturais como roço e poda drástica, esta última com o intuito de renovar a copa das árvores, assim como, eliminar possíveis galhos, ramos pragujejados, ou com fonte de inóculo (Figura 3).

Figura 3. Vista parcial do experimento (poda drástica realizada).



A Estação Experimental de Pacajus, pertencente à Embrapa Agroindústria Tropical é composta basicamente por solos do tipo “Neossolos Quartzarênicos”.

Na implantação do experimento toda a área utilizada foi corrigida por meio de calcário dolomítico, assim como, foram utilizados fertilizantes químicos e orgânicos na adubação de fundação e de cobertura.

A área total do experimento não foi irrigada (cultivo de sequeiro).

O experimento total, foi implantado em 1993 possuindo 600 plantas, sendo 49 progênies e 1 testemunha (CP 06), oriundas do Estado do Piauí e implantadas no Campo Experimental de Pacajus, localizado a 55 km de Fortaleza-Ceará.

A precipitação média anual é de 1.100mm com duas estações definidas, assim como a maior parte do Nordeste, onde em uma estação ocorrem as chuvas, normalmente de janeiro a junho e no restante do ano (julho a dezembro) praticamente não há precipitação, época da qual coincide com a floração e a frutificação do cajueiro.

O delineamento experimental original (1993), foi constituído em blocos ao acaso com 50 tratamentos, 3 repetições (Tabela 2), com 4 plantas/parcela. No entanto, para este trabalho, não foi considerado este delineamento.

Tabela 2 - Progenies instaladas no campo experimental da Embrapa em Pacajus-CE.

| Identificação (dendrograma) | Progenie tratamento | Origem |
|--------------------------------|------------------------|----------------|
| 01 | CNPAT 92-01 | Faz. Capisa |
| 02 | CNPAT 92-05 | Faz. Capisa |
| 03 | CNPAT 92-10 | Faz. Capisa |
| 04 | CNPAT 92-11 | Faz. Capisa |
| 05 | CNPAT 92-20 | Faz. Capisa |
| 06 | CNPAT 92-26 | Faz. Capisa |
| 07 | CNPAT 92-27 | Faz. Capisa |
| 08 | CNPAT 92-30 | Faz. Capisa |
| 09 | Progenie CP 06 | Progenie CP 06 |
| 10 | CNPAT 92-40 | Faz. Capisa |
| 11 | CNPAT92-45 | Faz. Capisa |
| 12 | CNPAT 92-46 | Faz. Capisa |
| 13 | CNPAT 92-50 | Faz. Capisa |
| 14 | CNPAT 92-52 | Faz. Capisa |
| 15 | CNPAT 92-54 | Faz. Capisa |
| 16 | CNPAT 92-56 | Faz. Capisa |
| 17 | CNPAT 92-58 | Faz. Capisa |
| 18 | CNPAT 92-62 | Faz. Capisa |
| 19 | CNPAT 92-67 | Faz. Capisa |
| 20 | CNPAT 92-71 | Faz. Capisa |
| 21 | CNPAT 92-73 | Faz. Capisa |
| 22 | CNPAT 92-76 | Faz. Itaueira |
| 23 | CNPAT 92-83 | Faz. Itaueira |
| 24 | CNPAT 92-88 | Faz. Itaueira |
| 25 | CNPAT 92-92 | Faz. Itaueira |

Continuação da Tabela 2 - Progênie instaladas no campo experimental da Embrapa em Pacajus-CE.

| Identificação (dendrograma) | Progênie Tratamento | Origem |
|--------------------------------|------------------------|----------------|
| 26 | CNPAT 92-312 | Faz. Capisa |
| 27 | CNPAT 92-314 | Faz. Capisa |
| 28 | CNPAT 92-322 | Faz. Capisa |
| 29 | CNPAT 92-323 | Faz. Capisa |
| 30 | CNPAT 92-327 | Faz. Capisa |
| 31 | CNPAT 92-329 | Faz. Capisa |
| 32 | CNPAT 92-330 | Faz. Capisa |
| 33 | CNPAT 92-331 | Faz. Capisa |
| 34 | CNPAT 92-333 | Faz. Capisa |
| 35 | CNPAT 92-335 | Faz. Capisa |
| 36 | CNPAT 92-337 | Faz. Capisa |
| 37 | CNPAT 92-338 | Faz. Capisa |
| 38 | CNPAT 92-339 | Faz. Capisa |
| 39 | CNPAT 92-342 | Faz. Capisa |
| 40 | CNPAT 92-343 | Faz. Capisa |
| 41 | Progênie CP 06 | Progênie CP 06 |
| 42 | CNPAT 92-346 | Faz. Capisa |
| 43 | CNPAT 92-347 | Faz. Capisa |
| 44 | CNPAT 92-353 | Faz. Capisa |
| 45 | CNPAT 92-354 | Faz. Capisa |
| 46 | CNPAT 92-371 | Faz. Capisa |
| 47 | CNPAT 92-377 | Faz. Capisa |
| 48 | CNPAT 92-378 | Faz. Capisa |
| 49 | CNPAT 92-382 | Faz. Capisa |
| 50 | CNPAT 92-385 | Faz. Capisa |

4.2. Avaliação morfoagronômica

No intuito de avaliar variáveis quantitativas nas progênies foram coletados e obtidos junto à Embrapa Agroindústria Tropical, dados do experimento com as seguintes características:

- Média do diâmetro da copa e altura da planta (intervalo de dois anos consecutivos).
- Média da produção por planta em gramas e número de castanhas por planta (intervalo de três anos consecutivos).

As medidas de dissimilaridade foram calculadas por meio da distância Euclidiana obtida a partir das médias das progênies conforme proposto por Cruz; Regazzi (1997). Conforme recomendação desses autores, em virtude das diferentes escalas de mensuração dos dados originais, esses foram padronizados antes da análise.

As análises estatísticas dos dados obtidos foram realizadas por meio do estudo da divergência genética por análise de agrupamento. A análise de agrupamento foi realizada aplicando-se a distância Euclidiana média, baseado na ligação média (UPGMA). A obtenção das médias de todas as variáveis de cada progênie foi realizada utilizando-se o aplicativo Microsoft Excel e os cálculos da divergência genética, foi realizado por meio do aplicativo GENES (CRUZ, 2006).

Além do estudo para formação de grupos, também foram efetuadas as seguintes etapas:

- Investigação da contribuição relativa de cada caráter para a divergência genética;
- Estimativa da maior distância, dentre o conjunto de menores distâncias, entre cada progênie;
- Estimativa das distâncias médias intergrupos correspondentes aos grupos formados.

Subsequentemente procedeu-se à elaboração do dendrograma, utilizando os resultados das médias obtidas entre as variáveis das progênies utilizando-se o aplicativo computacional GENES (CRUZ, 1997).

4.3. Caracterização molecular

4.3.1. Coleta do material vegetal

Para coleta do material no campo os seguintes materiais foram utilizados:

- Isopor de 24 litros;
- Sacos plásticos liofilizados tipo “zip lock” para coleta;
- Pincel atômico específico para plásticos;
- Tubos plásticos com gel;
- Gelo.

O material vegetal utilizado foi composto de folhas. Para assegurar uma melhor qualidade do DNA extraído e evitar contaminações com organismos epifíticos ou endofíticos, foram coletadas folhas jovens e saudáveis, de cajueiros na fase vegetativa.

As folhas coletadas foram armazenadas em sacos plásticos etiquetados posteriormente. Os sacos com os materiais coletados foram colocados dentro de uma caixa de isopor com gelo (Figura 4). No laboratório as folhas foram secas em sílica gel (CHASE; HILLS, 1991), posteriormente foram lavadas em água corrente e destilada, secas com papel absorvente e embaladas novamente, etiquetadas e armazenadas no freezer a 20 °C negativos, para posterior extração do DNA.

Figura 4. Retirada das amostras coletadas em campo.



4.4. Extração do DNA

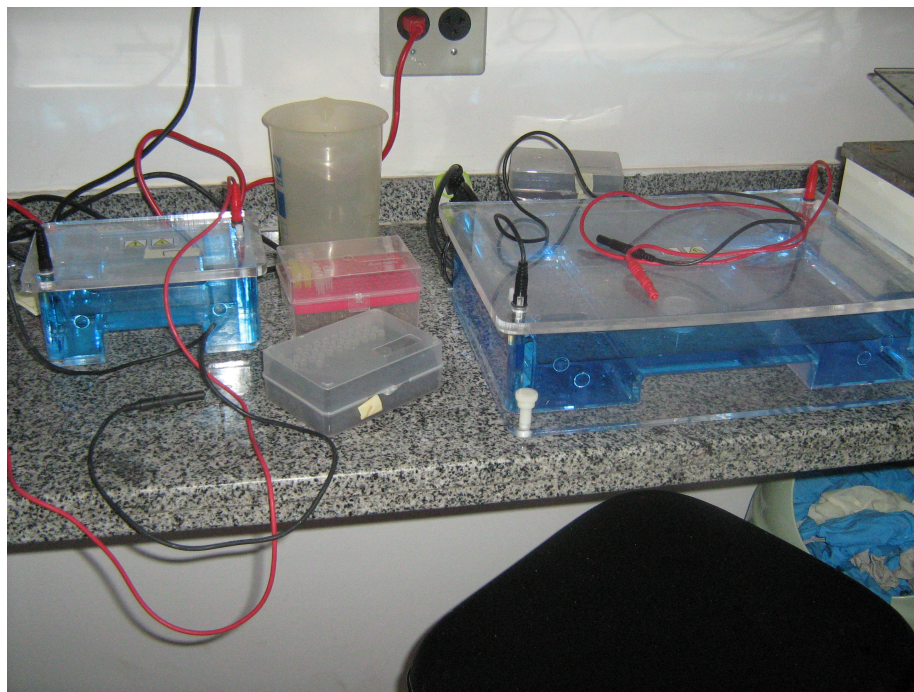
A extração do DNA foi realizada no laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Agroindústria Tropical. O protocolo adotado para extração de DNA foi baseado no método CTAB ajustado por Cavalcanti (2004) para *Anacardium occidentale* L, descrito a seguir.

Aproximadamente 0,9 gramas de folha fresca foi macerada em um microtubo de 2 ml contendo nitrogênio líquido por meio de um bastão de metal. Em seguida adicionou-se 700 µl do tampão de extração, pré-aquecido a 65 °C, composto dos seguintes reagentes: 100 mM de TRIS-HCl pH 8,0, 20 mM de EDTA (ethylenediaminetetracetate), 1,4 M de NaCl, 2% de CTAB (Cationic Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide) e 2% de PVP 40 (Polivinilpirrolidona).

O material foi homogeneizado em vórtex e incubado em banho maria por aproximadamente cinco minutos, invertendo os tubos duas vezes durante este período. Em seguida, adicionou-se 700 μL de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1) na capela, onde para cada microtubo, realizou-se a homogeneização da solução com inversões suaves durante dois a três minutos. Posteriormente, as amostras foram levadas à microcentrífuga a 13.500 rpm por 10 minutos. Nessa etapa a fase aquosa superior foi transferida para um novo microtubo, onde realizou-se a precipitação pela adição de 500 μL de isopropanol frio ($- 20^{\circ}\text{C}$), e, em seguida, efetuou-se uma nova centrifugação a 13.500 rpm, por 5 minutos. Ao final, o sobrenadante foi descartado e o pellet lavado com 450 μL de Etanol Absoluto, seguindo-se uma nova centrifugação por 5 minutos a 13.500 rpm e, em seguida, removeu-se o etanol cuidadosamente. O precipitado formado foi seco em temperatura ambiente por 12 horas e, em seguida, ressuspenso em 50 μL de TE (Tris /EDTA) e adicionado RNase 1,5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$.

Os DNAs extraídos foram visualizados através de eletroforese em gel de agarose 1,0% em TBE (90mM Tris-ácido bórico/1mM EDTA), com brometo de etídio (Figura 5).

Figura 5. Eletroforese em gel de agarose 1%.



Foi utilizado o marcador molecular 1Kb DNA ladder (Invitrogen). Para quantificação e análise da qualidade do DNA extraído de cada planta, as amostras foram submetidas ao Nanodrop 2000 Spectrophotometer (Thermo Scientific), onde o DNA extraído foi submetido à análise de pureza verificadas as relações A_{260}/A_{280} . A integridade do DNA é fundamental para a nitidez e reprodutibilidade dos produtos de amplificação via PCR (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995).

Das amostras de DNA, foram feitos bulk ou “mix” onde o material das parcelas (quatro folhas e duas plantas de cada progênie) foi diluído em água ultra pura na concentração de 15ng/ μ L.

4.5. Condições de amplificação dos fragmentos de DNA

A caracterização e análise de diversidade genética dos genótipos foram realizadas por meio de marcadores de DNA do tipo ISSR, dos quais foram utilizados 12 iniciadores (*primers*).

Os padrões de fragmentos que cada iniciador produziu, foram avaliados visualmente, levando-se em consideração a reprodutibilidade e a intensidade dos fragmentos e a presença de polimorfismo.

Foram realizados testes preliminares de amplificação com 26 iniciadores (*primers*) ISSR da marca IDT (Integrated DNA Technologies): 802, 807, 809, 810, 811, 812, 813, 815, 817, 819, 823, 827, 830, 836, 841, 842, 850, 852, 855, 856 858, 860, 861, 866, 878 e 880. Utilizando quatro genótipos selecionados ao acaso, foram escolhidos os 12 iniciadores que apresentaram os melhores resultados quanto à amplificação em termos de quantidade e nitidez de bandas. A partir dos resultados obtidos, esses iniciadores foram utilizados na caracterização das progênies de cajueiro.

A Tabela 3 mostra os 12 *primers* selecionados para o trabalho, assim como a temperatura média de anelamento e a sequência 5' – 3'.

Tabela 3. Iniciadores ISSR utilizados na caracterização molecular.

| Iniciadores selecionados ISSR | Sequência (5' – 3') | Temperatura média do anelamento em °C |
|-------------------------------|---------------------|---------------------------------------|
| 811 | GAGAGAGAGAGAGAGAC | 45,8 |
| 812 | GAGAGAGAGAGAGAGAA | 44,7 |
| 818 | CACACACACACACACAG | 50,0 |
| 823 | TCTCTCTCTCTCTCTCG | 47,1 |
| 825 | ACACACACACACACT | 50,4 |
| 835 | AGAGAGAGAGAGAGAGYC | 49,2 |
| 836 | AGAGAGAGAGAGAGAGYA | 47,9 |
| 846 | CACACACACACACACART | 50,8 |
| 847 | CACACACACACACARC | 52,1 |
| 848 | CACACACACACACARG | 51,7 |
| 849 | GTGTGTGTGTGTGTGTYA | 50,4 |
| 856 | ACACACACACACACACYA | 51,8 |

As reações de amplificação foram realizadas em dois termocicladores, sendo um do modelo TC 512 e o outro FLEXIGENE, ambos da TECHNE (Figura 6). As reações foram preparadas isoladamente.

A amplificação dos fragmentos de DNA foi realizada conforme Cavalcanti (2005).

As condições de reação inicialmente foram testadas com o objetivo de otimização das amplificações para cada um dos 12 iniciadores anteriormente escolhidos. Deste modo foram testadas:

- Concentração de MgCl₂ (1,0 mM, 1,5 mM e 2,0 mM);
- Utilização ou não utilização de BSA;
- Utilização de DNA Polymerase ou DNA Polymerase Platinum (Invitrogen).

As reações de amplificação compreenderam um volume final de 25 μL compostas por: 2,5 μL de tampão de reação 10x, 1,0 μL de MgCl_2 (2,0 mM) , 0,5 μl de dNTPs (0,2mM) 2 μl de DNA (5ng/ μL), 2 μL de cada iniciador (0,8mM), 0,2 μL de Taq DNA Polymerase Platinum (5unid/0,1 μL) e água miliQ (16,8 μL) para completar o volume de reação.

Figura 6. Termociclador Flexigene da Thermo



A programação utilizada nos termocicladores para a PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) foi de 5 minutos a 94°C para desnaturação inicial, seguindo-se de 40 ciclos de desnaturação (94°C por 1 minuto), anelamento de 47-55°C dependendo do iniciador, 1 minuto a 72°C (extensão) e extensão final a 72°C por 5 minutos.

As reações foram preparadas isoladamente e os produtos da amplificação (bandas) foram visualizados através de eletroforese em gel de agarose 1,8% em TBE (90mM Tris-ácido bórico/1mM EDTA), visualizados com brometo de etídio (0,5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) e submetidos a 110 volts por aproximadamente 2 horas e meia. Posteriormente os géis foram visualizados sob luz UV (ultra-violeta) e fotografados em fotodocumentador.

4.6. Análise dos dados

A organização dos dados foi feita em uma planilha com informações referentes à presença e ausência de bandas, características de cada iniciador para cada um dos genótipos. Em seguida, esses dados foram utilizados para construção de uma matriz de similaridade genética onde foi utilizado o coeficiente de similaridade de Jaccard, estimado de acordo com a equação abaixo:

$$I_{AB} = \frac{A}{(A + B + C)}$$

Onde: A, presença da mesma banda em ambos os indivíduos; B, presença da banda no indivíduo 1 e ausência no indivíduo 2 e C, ausência da banda no indivíduo 1 e presença no indivíduo 2.

A partir dessa matriz, o método de agrupamento utilizado para a obtenção do dendrograma foi o método UPGMA (Método de média aritmética não ponderada). Neste método o critério utilizado para a formação dos grupos é a média das distâncias entre todos os pares de itens que formam cada grupo, como a própria denominação informa. A distância intergrupo é a média das distâncias pareadas dos membros dos dois grupos (DIAS, 1998).

Para todas as análises foi utilizado o programa computacional Genes (CRUZ, 2006). A determinação dos valores de cada marcador na detecção de polimorfismo entre as 50 progênies de cajueiro analisadas foi realizada através do conteúdo de informação polimórfica (PIC-*polymorphism information content*) segundo Anderson et al. (1993), calculado em função do número e alelos detectados, da sua distribuição e frequência na população estudada.

Os valores de PIC para cada iniciador ISSR foram determinados pela seguinte expressão:

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

Nesta expressão P_{ij} é a frequência do alelo “j” no marcador “i”, a soma se estende por todos (n) os alelos. O cálculo foi baseado no número de alelos detectados por marcador para um determinado loco, ou seja, “0” para ausência de alelo e “1” para presença do alelo e pela frequência relativa de cada alelo no conjunto das 50 progênies analisadas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análise de divergência usando dados moleculares

Pela análise de pureza dos DNAs extraídos, verificadas pelas relações A_{260}/A_{280} , constatou-se que foram obtidas amostras de boa qualidade, com variação de 1,73 a 1,98. A integridade do DNA é fundamental para a nitidez e reprodutibilidade dos produtos de amplificação via PCR (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995). As quantidades extraídas foram suficientes para realização do experimento.

As condições de reação selecionadas após a etapa de otimização foram de 2,0 mM de $MgCl_2$ e Taq DNA Polymerase Platinum. A etapa da otimização foi necessária haja vista que a mesma aumentou a eficiência da reação assim como, melhorou a reprodutibilidade.

Na Figura 7 pode-se observar a foto da reação eletroforética, onde nota-se a falta de nitidez e clareza excessiva da mesma, a concentração de $MgCl_2$ é de 1,5 mM. Foi necessário modificar esta concentração para 2,0 mM (Figura 8) haja vista que na concentração anterior, poderiam ocorrer erros de interpretação com relação à avaliação e visualização das bandas comprometendo inclusive a contagem das mesmas.

Figura 7. Resultado da eletroforese em gel de agarose 1,8% com visualização dos DNAs das progênies de cajueiro anão precoce (1 a 25), usando o ISSR 825 com concentração de $MgCl_2$ 1,5 mM.

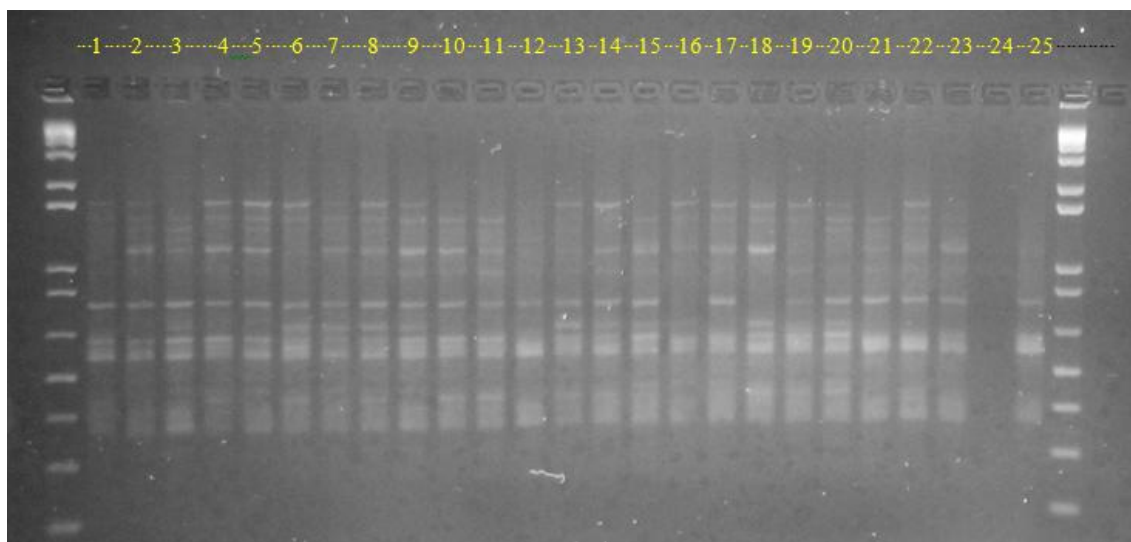
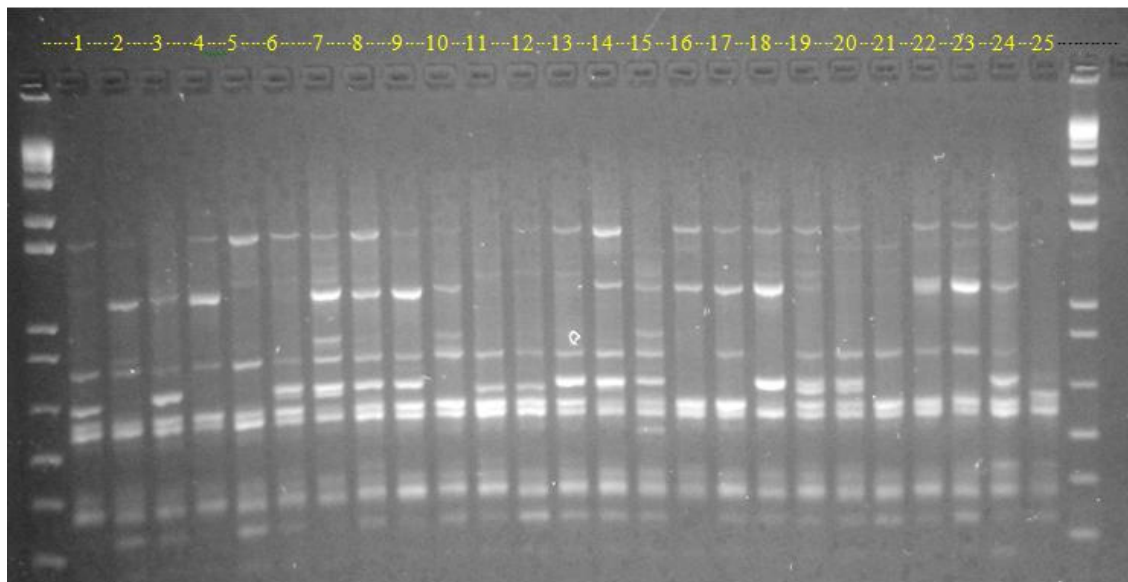


Figura 8. Resultado da eletroforese em gel de agarose 1,8% com visualização dos DNAs das progênies de cajueiro anão precoce (1 a 25), usando o ISSR 825 com concentração de $MgCl_2$ 2,0 mM.

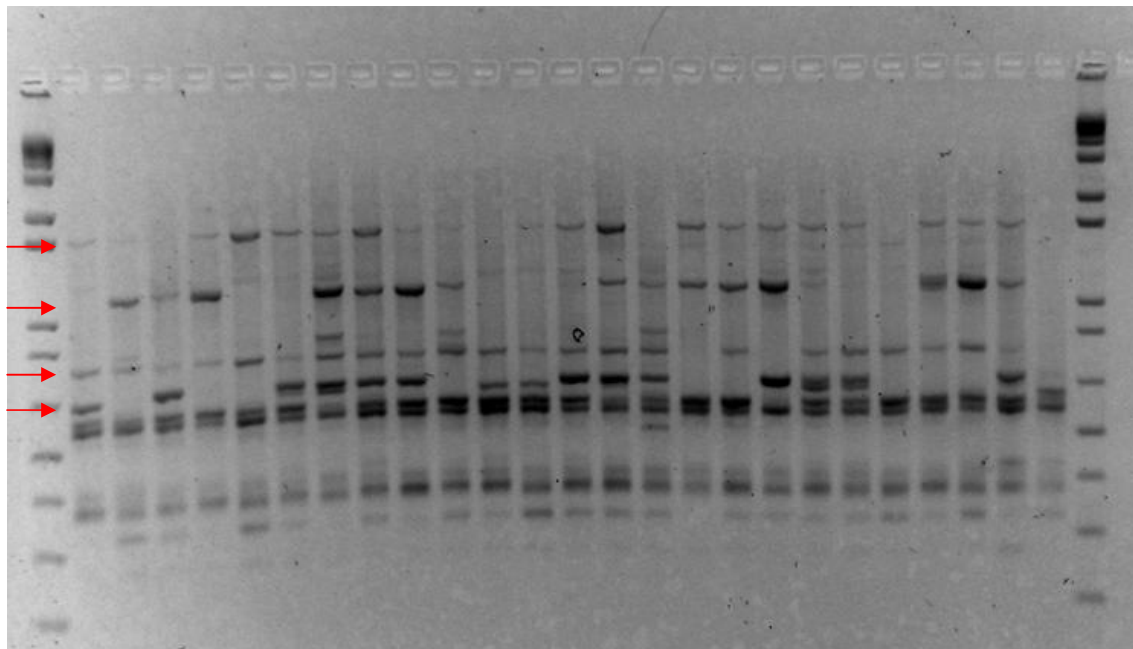


Na Figura 8 observa-se que após a modificação do protocolo alterando a concentração do $MgCl_2$ para 2,0 mM. Houve melhora significativa no padrão de qualidade das fotos da reação eletroforética, melhorando a sua nitidez e possibilitando desta maneira, uma avaliação mais eficiente.

A análise dos dados com os 12 iniciadores selecionados revelou variação no número de fragmentos amplificados totalizando 71 bandas (62%) (Tabela 4).

Foi possível identificar 27 bandas polimórficas (38%). O número de marcadores polimórficos por iniciador variou de 1 a 4 (ISSR 825). Na Figura 9 encontra-se o padrão obtido a partir do ISSR 825.

Figura 9. Padrão de amplificação de vinte e cinco progênies de cajueiro utilizando o ISSR 825. Linhas laterais correspondem ao marcador de 1Kb e linhas de 1 a 25 correspondem às progênies de cajueiro. Setas indicam marcadores polimórficos.



Londe et al. (2010), estudando a divergência genética entre populações de *Anacardium humile* St. Hill. (cajuzinho do cerrado) por meio de marcadores AFLP, observou que de acordo com o método Doyle, J. J e Doyle, J. L (1987), houve amplificação do DNA onde foram geradas 118 bandas polimórficas e 242 bandas monomórficas nas 16 combinações de *primers* testados, resultado próximo ao encontrado nesse trabalho.

O conteúdo de informação polimórfica (Tabela 4) variou de 0,43 a 0,91 com uma média de 0,70. Segundo Botstein et al. (1980), marcadores com valores de PIC superiores a 0,5 são considerados muito informativos, valores entre 0,25 e 0,5 medianamente informativo e valores inferiores a 0,25 pouco informativos. Malone et al. (2007) comentam que o PIC está relacionado com o número de alelos, que por sua vez, está diretamente associado à divergência genética e ao número de genótipos em estudo.

Tabela 4. Sequência do iniciador, bandas geradas e polimórficas dos 12 iniciadores ISSR utilizadas na caracterização das progênies de cajueiro.

| Iniciador | Sequência (5' → 3') | Bandas polimórficas | Bandas geradas | PIC médio |
|--------------|---------------------|---------------------|----------------|-----------|
| 811 | GAGAGAGAGAGAGAGAC | 03 | 06 | 0,65 |
| 812 | GAGAGAGAGAGAGAGAA | 01 | 03 | 0,91 |
| 818 | CACACACACACACACAG | 02 | 04 | 0,72 |
| 823 | TCTCTCTCTCTCTCC | 02 | 04 | 0,43 |
| 825 | ACACACACACACACACT | 04 | 08 | 0,71 |
| 835 | AGAGAGAGAGAGAGAGYC | 02 | 08 | 0,77 |
| 836 | AGAGAGAGAGAGAGAGYA | 02 | 05 | 0,76 |
| 846 | CACACACACACACACART | 02 | 05 | 0,77 |
| 847 | CACACACACACACARC | 02 | 06 | 0,79 |
| 848 | CACACACACACACARG | 02 | 06 | 0,56 |
| 849 | GTGTGTGTGTGTGTGYA | 02 | 07 | 0,55 |
| 856 | ACACACACACACACACYA | 03 | 09 | 0,74 |
| TOTAL | - | 27 | 71 | 0,70 |

Na Tabela 4, pode-se observar que alguns marcadores com alto valor de PIC possuem poucas bandas polimórficas, uma possível explicação para este fato, deve-se provavelmente ao número de populações estudadas, o que pode indicar que o valor do PIC aumenta de acordo com o número de genótipos avaliados (WIETHOLTER, 2005).

5.1.1. Coeficientes de similaridade de Jaccard

Na Tabela 5, elaborada com base na matriz de dissimilaridade com dados obtidos por meio do software GENES, usando o coeficiente de similaridade genética de Jaccard, demonstra o grau de divergência entre as progênies de cajueiro anão precoce em estudo.

Tabela 5. Dissimilaridade obtida pelo coeficiente de Jaccard (matriz) em progênies de meios-irmãos de cajueiro anão precoce, Pacajus, CE.

| Progênies | Valor máximo Identificação/ progênie | Valor mínimo Identificação/progênie |
|---------------------|---|--|
| (01) CNPAT 92-01 | 0,82 (08) CNPAT 92-30 | 0,50 (27) CNPAT 92-314 |
| (02) CNPAT 92-05 | 0,87 (50) CNPAT 92-385 | 0,42 (22) CNPAT 92-76 |
| (03) CNPAT 92-10 | 0,78 (26) CNPAT 92-312 | 0,35 (19) CNPAT 92-67 |
| (04) CNPAT 92-11 | 0,83 (08) CNPAT 92-30 | 0,38 (28) CNPAT 92-322 |
| (05) CNPAT 92-20 | 0,78 (50) CNPAT 92-385 | 0,26 (13) CNPAT 92-50 |
| (06) CNPAT 92-26 | 0,91 (50) CNPAT 92-385 | 0,39 (13) CNPAT 92-50 |
| (07) CNPAT 92-27 | 0,76 (50) CNPAT 92-385 | 0,33 (45) CNPAT 92-354 |
| (08) CNPAT 92-30 | 0,88 (17) CNPAT 92-58 | 0,46 (22) CNPAT 92-76 |
| (09) Progênie CP 06 | 0,88 (50) CNPAT 92-385 | 0,33 (23) CNPAT 92-83 |
| (10) CNPAT 92-40 | 0,79 (50) CNPAT 92-385 | 0,37 (14) CNPAT 92-52 |
| (11) CNPAT 92-45 | 0,74 (50) CNPAT 92-385 | 0,40 (14) CNPAT 92-52 |
| (12) CNPAT 92-46 | 0,77 (43) CNPAT 92-347 | 0,29 (15) CNPAT 92-54 |
| (13) CNPAT 92-50 | 0,80 (50) CNPAT 92-385 | 0,27 (21) CNPAT 92-73 |
| (14) CNPAT 92-52 | 0,76 (50) CNPAT 92-385 | 0,35 (19) CNPAT 92-67 |
| (15) CNPAT 92-54 | 0,80 (50) CNPAT 92-385 | 0,32 (19) CNPAT 92-67 |
| (16) CNPAT 92-56 | 0,79 (20) CNPAT 92-71 | 0,53 (31) CNPAT 92-329 |
| (17) CNPAT 92-58 | 0,80 (50) CNPAT 92-385 | 0,31 (31) CNPAT 92-329 |
| (18) CNPAT 92-62 | 0,74 (35) CNPAT 92-335 | 0,46 (21) CNPAT 92-73 |
| (19) CNPAT 92-67 | 0,75 (50) CNPAT 92-385 | 0,30 (30) CNPAT 92-327 |
| (20) CNPAT 92-71 | 0,76 (50) CNPAT 92-385 | 0,43 (41) Progênie CP 06 |
| (21) CNPAT 92-73 | 0,72 (27) CNPAT 92-314 | 0,37 (49) CNPAT 92-382 |
| (22) CNPAT 92-76 | 0,83 (50) CNPAT 92-385 | 0,43 (24) CNPAT 92-88 |
| (23) CNPAT 92-83 | 0,78 (26) CNPAT 92-312 | 0,39 (45) CNPAT 92-354 |
| (24) CNPAT 92-88 | 0,76 (29) CNPAT 92-323 | 0,44 (37) CNPAT 92-337 |
| (25) CNPAT 92-92 | 0,71 (50) CNPAT 92-385 | 0,35 (44) CNPAT 92-353 |
| (26) CNPAT 92-312 | 0,89 (50) CNPAT 92-385 | 0,47 (45) CNPAT 92-354 |
| (27) CNPAT 92-314 | 0,82 (50) CNPAT 92-385 | 0,42 (39) CNPAT 92-342 |
| (28) CNPAT 92-322 | 0,73 (44) CNPAT 92-353 | 0,50 (30) CNPAT 92-327 |
| (29) CNPAT 92-323 | 0,90 (50) CNPAT 92-385 | 0,37 (42) CNPAT 92-346 |

Continuação da Tabela 5. Dissimilaridade obtida pelo coeficiente de Jaccard (matriz) em progênies de meios-irmãos de cajueiro anão precoce, Pacajus, CE.

| .Progênies | Valor máximo identificação/ progênie | Valor mínimo Identificação/progênie |
|---------------------|---|--|
| (30) CNPAT 92-327 | 0,71 (50) CNPAT 92-385 | 0,35 (47) CNPAT 92-377 |
| (31) CNPAT 92-329 | 0,76 (50) CNPAT 92-385 | 0,39 (38) CNPAT 92-339 |
| (32) CNPAT 92-330 | 0,70 (50) CNPAT 92-385 | 0,29 (39) CNPAT 92-342 |
| (33) CNPAT 92-331 | 0,85 (50) CNPAT 92-385 | 0,18 (35) CNPAT 92-335 |
| (34) CNPAT 92-333 | 0,72 (50) CNPAT 92-385 | 0,28 (47) CNPAT 92-377 |
| (35) CNPAT 92-335 | 0,82 (50) CNPAT 92-385 | 0,29 (39) CNPAT 92-342 |
| (36) CNPAT 92-337 | 0,71 (41) Progênie CP 06 | 0,30 (37) CNPAT 92-338 |
| (37) CNPAT 92-338 | 0,70 (41) Progênie CP 06 | 0,35 (46) CNPAT 92-371 |
| (38) CNPAT 92-339 | 0,71 (41) Progênie CP 06 | 0,29 (39) CNPAT 92-342 |
| (39) CNPAT 92-342 | 0,73 (50) CNPAT 92-385 | 0,25 (47) CNPAT 92-377 |
| (40) CNPAT 92-343 | 0,75 (41) Progênie CP 06 | 0,36 (49) CNPÁT 92-382 |
| (41) Progênie CP 06 | 0,82 (50) CNPAT 92-385 | 0,55 (47) CNPAT 92-377 |
| (42) CNPAT 92-346 | 0,82 (50) CNPAT 92-385 | 0,22 (47) CNPAT 92-377 |
| (43) CNPAT 92-347 | 0,68 (46) CNPAT 92-371 | 0,45 (44) CNPAT 92-353 |
| (44) CNPAT 92-353 | 0,83 (50) CNPAT 92-385 | 0,29 (45) CNPAT 92-354 |
| (45) CNPAT 92-354 | 0,82 (50) CNPAT 92-385 | 0,38 (47) CNPAT 92-377 |
| (46) CNPAT 92-371 | 0,53 (50) CNPAT 92-385 | 0,35 (47) CNPAT 92-377 |
| (47) CNPAT 92-377 | 0,76 (50) CNPAT 92-385 | 0,26 (48) CNPAT 92-378 |
| (48) CNPAT 92-378 | 0,61 (50) CNPAT 92-385 | 0,39 (49) CNPAT 92-382 |
| (49) CNPAT 92-382 | 0,75 (50) CNPAT 92-385 | - |

Pela Tabela 5, pode-se observar que as maiores distâncias foram entre as progênies CNPAT 92-26 (6) e CNPAT 92-385 (50) com o valor de 0,91, seguido da CNPAT 92-30 (08) e CNPAT 92-58 (17) com 0,88 e a progênie CNPAT 92-11 (04) com a CNPAT 92-30 (08), que apresentou distância de 0,83.

Pode-se desta forma afirmar que pelo coeficiente de Jaccard estes pares são os mais divergentes entre todos os demais e que poderão participar do programa de

melhoramento, com possibilidade de contribuir para obtenção de ganhos genéticos expressivos e exploração da heterose.

Os menores valores encontrados foram entre as progênies CNPAT 92-331 (33) e CNPAT 92-335 (35) com valor de 0,18 e CNPAT 92-346 (42) e CNPAT 92-377 (47) com valor de 0,22 apresentando assim, maior grau de similaridade, ou seja, alto grau de parentesco. É importante ressaltar que todas as progênies citadas são oriundas da Fazenda Capisa do mesmo campo de coleta. Segundo Fonseca et al. (2006) alta variabilidade genética possibilita a identificação de genótipos divergentes e, por conseguinte, combinações híbridas de maior efeito heterótico, permitindo em suas gerações segregantes o desenvolvimento de genótipos superiores. Devendo-se, portanto, na seleção de genitores para cruzamentos, procurar sempre aliar o bom desempenho dos genótipos com a divergência genética.

5.1.2. Análise de agrupamento

O dendrograma de agrupamento das 50 progênies obtido pelo método UPGMA é apresentado na Figura 9. Uma linha de corte horizontal é traçada a uma distância de ligação em torno de 75% no agrupamento hierárquico das progênies.

O grupo mais divergente foi o 14, composto pelas progênies CNPAT 92-385 (50) e CNPAT 92-62 (18) assim como o grupo 13, que possui apenas a progênie CNPAT 92-56 (16) onde é interessante para o melhoramento, a escolha das progênies desses grupos para uso nas hibridações e exploração da heterose.

Destaque também para as progênies CNPAT 92-26 (6) e a CNPAT 92-11 (4) que ficaram em grupos distintos isoladas.

Pode-se constatar que as progênies do grupo 1, especialmente as do subgrupo 1 são as mais similares (Figura 9), e são composta pelas progênies CNPAT 92-331 (33) e CNPAT 92-335 (35), que possuem aproximadamente 75% de similaridade. Ambas são oriundas do mesmo campo de coleta no município de Pio IX no Piauí (Fazenda Capisa), o que pode justificar esta similaridade.

Ainda no grupo 1, em ambos os subgrupos, verifica-se que há presença maciça de materiais procedentes do mesmo local e campo de coleta, onde as progênies CNPAT 92-342 (39), CNPAT 92-343 (40) do subgrupo I e CNPAT 92-337 (36), CNPAT 92-338 (37) do subgrupo II, são procedentes da Fazenda Capisa, assim como as progênies CNPAT 92-353 (44) e CNPAT 92-354 (45), que ficaram locadas no subgrupo II.

Embora o experimento seja composto em sua maior parte de materiais procedentes do município de Pio IX no Piauí, no dendrograma (Figura 9), observa-se que houve tendência de aglomeração dos materiais oriundos de Canto do Buriti (PI), haja vista que das quatro progênies utilizadas neste experimento, duas delas, as progênies CNPAT 92-88 (24) e CNPAT 92-92 (25) ficaram distribuídas no mesmo grupo (Grupo 9) e uma, a CNPAT 92-83 (23) ficou locada no grupo 8. No entanto, a CNPAT 92-76 (22) também procedente do mesmo local, ficou no grupo 12, que pode ser explicado pelo fato do cajueiro ser uma planta alógama.

Pessoni (2007), trabalhando com a caracterização e quantificação da variabilidade genética, assim como a estimativa das distâncias genéticas entre 91 genótipos do Banco Ativo de Germoplasma de cajueiro estudados, observou dentre eles que não houve uma separação clara dos acessos, segundo a origem ou espécie, foi percebida uma tendência ao agrupamento dos acessos de algumas populações. A maior parte dos genótipos do Nordeste se concentrou em dois subgrupos distintos, assim como os genótipos da Índia. Os genótipos de “anão precoce” formaram apenas um grupo principal, enquanto os acessos de Roraima, não formaram nenhum subgrupo principal.

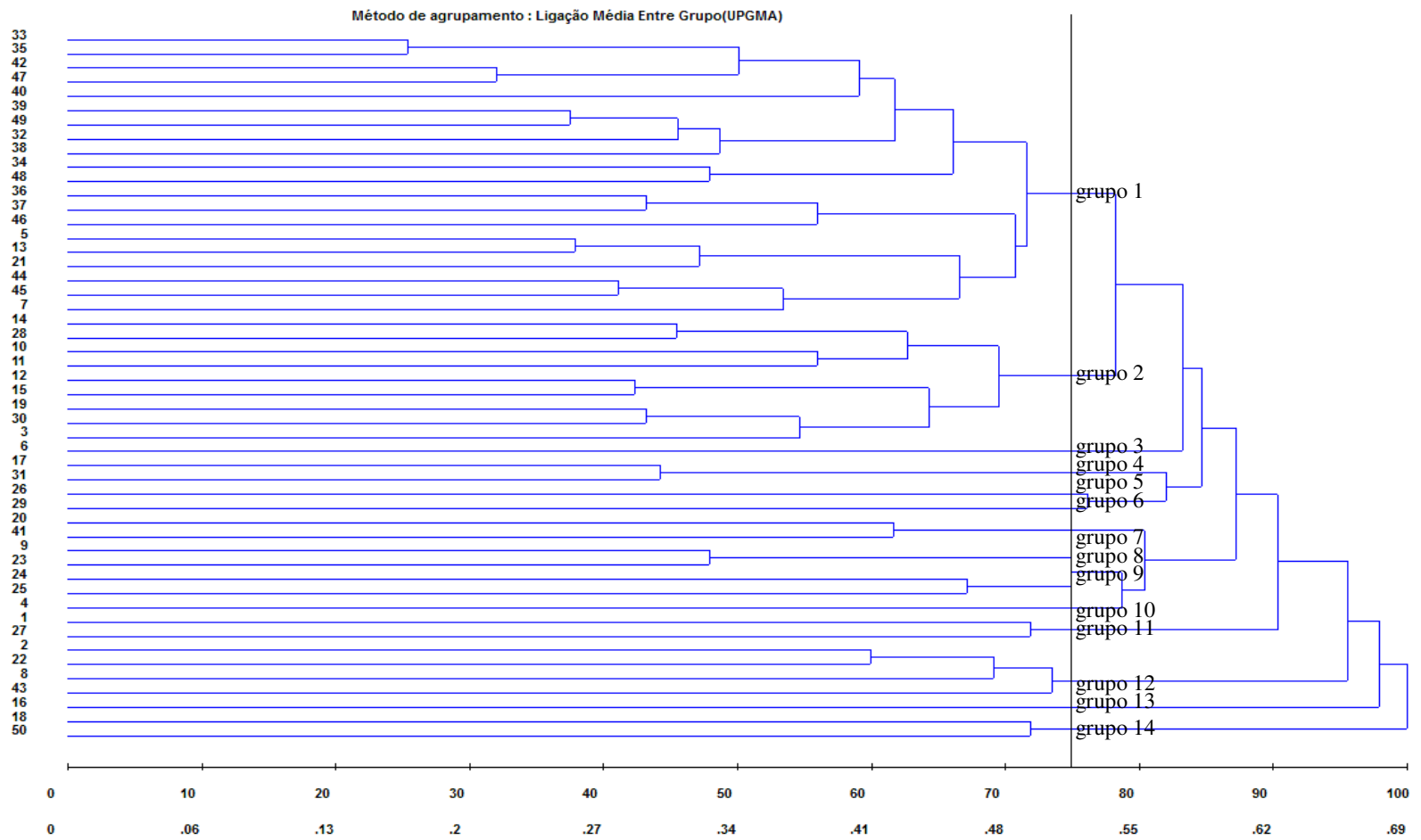


Tabela 6. Grupos e subgrupos obtidos a partir da amplificação de 12 iniciadores ISSR para cinquenta progênies de cajueiro anão precoce.

| GRUPO | SUBGRUPO | PROGÊNIES |
|-------|-------------|---|
| I | Subgrupo I | CNPAT 92-331, CNPAT 92-335, CNPAT 92-346, CNPAT 92-377, CNPAT 92-343, CNPAT 92-342, CNPAT 92-382, CNPAT 92-330, CNPAT 92-339, CNPAT 92-333, CNPAT 92-378. |
| | Subgrupo II | CNPAT 92-337, CNPAT 92-338, CNPAT 92-371, CNPAT 92-20, CNPAT 92-50, CNPAT 92-73, CNPAT 92-353, CNPAT 92-354, CNPAT 92-27. |
| II | Subgrupo I | CNPAT 92-52, CNPAT 92-332, CNPAT 92-40, CNPAT 92-45. |
| | Subgrupo II | CNPAT 92-46, CNPAT 92-54, CNPAT 92-67, CNPAT 92-327, CNPAT 92-10. |
| III | Subgrupo I | CNPAT 92-26. |
| IV | Subgrupo I | CNPAT 92-58, CNPAT 92-329. |
| V | Subgrupo I | CNPAT 92-312. |
| VI | Subgrupo I | CNPAT 92-323. |
| VII | Subgrupo I | CNPAT 92-71, Progênie CP-06. |
| VIII | Subgrupo I | Progênie CP-06, CNPAT 92-83. |
| IX | Subgrupo I | CNPAT 92-88, CNPAT 92-92. |
| X | Subgrupo I | CNPAT 92-11. |
| XI | Subgrupo I | CNPAT 92-01, CNPAT 92-314. |
| XII | Subgrupo I | CNPAT 92-05, CNPAT 92-76, CNPAT 92-30, CNPAT 92-347. |
| XIII | Subgrupo I | CNPAT 92-56. |
| XIV | Subgrupo I | CNPAT 92-62, CNPAT 92-385. |

Dhanaraj et al. (2002) estimaram a diversidade genética entre 90 acessos do Banco Nacional de Genética do Cajueiro da Índia utilizando marcadores RAPD. Segundo os autores, a diversidade do banco indiano de germoplasma de caju pode ser considerada de moderada a alta.

Pelo método de agrupamento UPGMA os grupos 13 e 14 são aqueles que possuem progênes mais divergentes. As progênes CNPAT 92-56 (16), CNPAT 92-62 (18) e CNPAT 92-358 (50) foram as mais divergentes, enquanto as mais similares em ambas as análises foram: CNPAT 92-331 (33) e CNPAT 92-335 (35) oriundas do grupo I, subgrupo I. Para ampliar a variabilidade genética e obtenção de genótipos mais promissores são indicados cruzamentos entre os materiais mais divergentes, ou seja, as progênes dos grupos XIII e XIV com as progênes do grupo I subgrupo I: CNPAT 92-331 (33), CNPAT 92-335 (35), CNPAT 92-346 (42) e CNPAT 92-377 (47).

5.2. Análise da divergência genética usando dados de caracteres quantitavos

A distância Euclidiana média pode ser obtida por meio de observações individuais dos progenitores, sem a necessidade de experimentos que envolvam delineamentos experimentais. Quando se dispõe de ensaios planejados, pode-se, alternativamente, ignorar o delineamento e calcular os valores de dii, a partir das médias das repetições do ensaio. No entanto, para este tipo análise, seria interessante um maior número de caracteres morfológicos e agrônômicos para discriminar melhor os materiais e desta maneira, aproximar seus resultados com os resultados da análise molecular (CRUZ; REGAZZI, 1997).

As distâncias D mínimas e máximas entre as progênes estudadas estão apresentadas na Tabela 7. Verificam-se nas distâncias máximas que a maior parte das progênes avaliadas, apresentam suas distâncias D máximas quando combinadas com a progênie 33 (CNPAT 92-331) sendo o maior valor de divergência genética obtido com a 24 (CNPAT 92 – 88) ($D = 9,83$), indicando a progênie CNPAT 92 – 331 como a mais divergente.

Tabela 7. Distâncias Euclidianas máximas e mínimas entre as 50 progênes de caju.

| Progênes | Distância entre progênes (D) | | | |
|--------------------|------------------------------|----|---------|----|
| | Mínimas | | Máximas | |
| 1 – CNPAT 92 - 01 | 0,56 | 47 | 7,83 | 33 |
| 2 – CNPAT 92 - 05 | 0,40 | 40 | 7,01 | 33 |
| 3 – CNPAT 92 - 10 | 0,68 | 20 | 8,04 | 33 |
| 4 – CNPAT 92 - 11 | 0,46 | 40 | 6,76 | 33 |
| 5 – CNPAT 92 - 20 | 0,98 | 35 | 6,98 | 33 |
| 6 – CNPAT 92 - 26 | 0,91 | 12 | 5,81 | 33 |
| 7 – CNPAT 92 - 27 | 0,43 | 11 | 6,83 | 33 |
| 8 – CNPAT 92 - 30 | 0,39 | 21 | 8,80 | 33 |
| 9 – Progênie CP 06 | 0,80 | 17 | 9,36 | 33 |
| 10 – CNPAT 92 - 40 | 0,77 | 16 | 8,04 | 33 |
| 11 – CNPAT 92 - 45 | 0,43 | 7 | 7,00 | 33 |
| 12 – CNPAT 92 - 46 | 0,91 | 6 | 6,01 | 33 |
| 13 – CNPAT 92 - 50 | 0,38 | 27 | 8,35 | 33 |
| 14 – CNPAT 92 - 52 | 0,36 | 44 | 8,43 | 33 |
| 15 – CNPAT 92 - 54 | 0,19 | 17 | 9,63 | 33 |
| 16 – CNPAT 92 - 56 | 0,77 | 10 | 7,49 | 33 |
| 17 – CNPAT 92 - 58 | 0,19 | 15 | 9,49 | 33 |
| 18 – CNPAT 92 - 62 | 0,68 | 42 | 8,58 | 33 |
| 19 – CNPAT 92 - 67 | 0,27 | 50 | 8,37 | 33 |
| 20 – CNPAT 92 - 71 | 0,68 | 03 | 8,39 | 33 |
| 21 – CNPAT 92 - 73 | 0,28 | 27 | 8,81 | 33 |
| 22 – CNPAT 92 - 76 | 0,40 | 17 | 9,09 | 33 |
| 23 – CNPAT 92 - 83 | 0,24 | 18 | 9,16 | 33 |
| 24 – CNPAT 92 - 88 | 0,55 | 15 | 9,83 | 33 |
| 25 – CNPAT 92 - 92 | 0,55 | 28 | 8,76 | 33 |

Continuação da Tabela 7. Distâncias Euclidianas máximas e mínimas entre as 50 progênes de caju.

| Progênes | Distância entre progênes (D) | | | |
|---------------------|------------------------------|----|-------------|----|
| | Mínimas | | Máximas | |
| 26 – CNPAT 92 - 312 | 0,36 | 44 | 8,05 | 33 |
| 27 – CNPAT 92 - 314 | 0,28 | 21 | 8,52 | 33 |
| 28 – CNPAT 92 - 322 | 0,53 | 14 | 8,21 | 33 |
| 29 – CNPAT 92 - 323 | 0,91 | 45 | 6,91 | 33 |
| 30 – CNPAT 92 - 327 | 0,48 | 11 | 7,32 | 33 |
| 31 – CNPAT 92 - 329 | 1,07 | 34 | 7,40 | 33 |
| 32 – CNPAT 92 - 330 | 1,18 | 39 | 5,55 | 24 |
| 33 – CNPAT 92 - 331 | 4,48 | 32 | 9,83 | 24 |
| 34 – CNPAT 92 - 333 | 0,95 | 37 | 7,42 | 33 |
| 35 – CNPAT 92 - 335 | 0,80 | 26 | 7,70 | 33 |
| 36 – CNPAT 92 - 337 | 0,68 | 28 | 7,91 | 33 |
| 37 – CNPAT 92 - 338 | 0,36 | 41 | 6,98 | 33 |
| 38 – CNPAT 92 - 339 | 0,80 | 43 | 6,44 | 33 |
| 39 – CNPAT 92 - 342 | 1,18 | 32 | 5,97 | 24 |
| 40 – CNPAT 92 - 343 | 0,40 | 02 | 6,91 | 33 |
| 41 – Progênie CP 06 | 0,21 | 45 | 7,24 | 33 |
| 42 – CNPAT 92 - 346 | 0,68 | 18 | 7,93 | 33 |
| 43 – CNPAT 92 - 347 | 0,80 | 38 | 6,14 | 33 |
| 44 – CNPAT 92 - 353 | 0,35 | 50 | 8,34 | 33 |
| 45 – CNPAT 92 - 354 | 0,21 | 21 | 7,17 | 33 |
| 46 – CNPAT 92 - 371 | 0,69 | 18 | 8,29 | 33 |
| 47 – CNPAT 92 - 377 | 0,31 | 48 | 7,84 | 33 |
| 48 – CNPAT 92 - 378 | 0,31 | 47 | 7,76 | 33 |
| 49 – CNPAT 92 - 382 | 0,93 | 12 | 6,06 | 33 |
| 50 – CNPAT 92 - 385 | 0,27 | 19 | 8,32 | 33 |

O menor valor D é atribuído às progênes 15 (CNPAT 92 – 54) e 17 (CNPAT 92 – 58) ($D = 0,19$) ambas oriundas da Fazenda Capisa indicando grande similaridade entre essas duas progênes para os caracteres estudados. A maior similaridade genética pode ser atribuída a uma base genética semelhante, em virtude de ambas as progênes serem oriundas do programa de melhoramento da Embrapa Agroindústria Tropical, além do local de coleta ser o mesmo.

A progênie CNPAT 92-88 (24) oriunda de Canto do Buriti, PI (Fazenda Itaueira) se destaca também com distância significativa entre as seguintes progênes: CNPAT 92-330 (32), CNPAT 92 – 331 (33), e CNPAT 92-342 (39), todas oriundas da Fazenda Capisa.

Verifica-se também que a progênie CNPAT 92-331 (33) obteve a menor distância ($D = 4,48$) entre a progênie CNPAT 92-330 (32), ambas da Fazenda Capisa (Pio IX, PI).

Analisando a progênie CNPAT 92-330 (32), observa-se que diferentemente da mais divergente, CNPAT 92-331 (33), a menor distância encontrada foi com CNPAT 92-342 (39) com $D = 1,18$ e a maior distância ($D = 5,55$) com CNPAT 92-88 (24).

Pela Distância Euclidiana média pode-se sugerir que as progênes CNPAT 92-330 (32) e CNPAT 92-88 (24), CNPAT 92-331 (33) e CNPAT 92-88 (24), CNPAT 92-88 (24) e CNPAT 92-331 (33) e CNPAT 92-342 (39) e CNPAT 92-88 (24) a priori, poderão ser utilizadas no programa de melhoramento genético do cajueiro da Embrapa Agroindústria Tropical, pelo fato das mesmas terem apresentado maior distância genética ($D = 5,56, 9,83, 9,83$ e $5,97$) respectivamente.

A progênie CNPAT 92-331 (33) foi de fato a mais divergente entre todas as demais onde neste caso se classifica como aquela que poderá ser utilizada no programa de melhoramento genético do cajueiro entre praticamente todas as demais progênes.

Foram estudadas também, a contribuição relativa de cada caráter ou característica morfológica para a divergência genética.

Examinando a Tabela 8, observa-se que a variável que mais contribuiu para a divergência genética foi a produção com 97,80%.

Tabela 8. Contribuição relativa das variáveis resposta para a divergência genética em 50 progênies de cajueiro.

| Variável resposta | Contribuição relativa das variáveis resposta para a divergência genética (%) |
|--------------------------|---|
| Altura | 0,0003 |
| Diâmetro | 0,0005 |
| Número de castanhas | 2,1943 |
| Produção | 97,8049 |

Avaliando genótipos obtidos de cruzamentos entre cajueiro anão precoce, Cavalcanti et al. 2003, identificaram incrementos médios de 12%, 19%, 98% e 97%, para altura da planta, diâmetro da copa, número de castanhas por planta e produtividade, respectivamente. Além desses caracteres, Crisóstomo et al. (2002) detectaram heterose para os relacionados ao pedúnculo, com valores de até 100% para a concentração de tanino, 52% para a acidez total, 10% para teores de sólidos solúveis, 22% para textura do pedúnculo e -9% para o pH.

Já Paiva et al. (1998) estudando os efeitos da depressão por endogamia sobre as características vegetais e de produção, aos 12, 18 e 29 meses de idade das plantas, comparando progênies de clones de cajueiro anão precoce originárias de autofecundações, polinizações livres e de cruzamentos controlados, mostraram pelos resultados que houve reduções significativas de até 15,4% no caráter altura da planta, 19,5% no diâmetro da copa, 11,6% no peso da castanha, 12,4% no peso da castanha, 12,4% no peso da amêndoa e de 48% na produção.

Os resultados encontrados demonstram a existência de alta variabilidade genética para a produção, onde a mesma é o caráter que mais influencia para a divergência genética.

Cavalcanti et al. (2000), avaliando a heterose em plantas oriundas do cruzamento entre tipos comum e anão precoce constataram efeitos de 20% para a altura da planta, 32% para diâmetro da copa, 121% para número de castanhas por planta, 192% para produtividade, 15% para peso da castanha e 19% para peso da amêndoa.

Barros (1991) utilizou 30 caracteres morfológicos, entre características quantitativas e qualitativas ou multicategóricas, assim como 67 acessos de *Anacardium occidentale* do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de cajueiro da Embrapa Agroindústria Tropical, onde as estimativas de divergência foram obtidas por meio da técnica dos componentes principais e o método de agrupamento utilizado foi o de Tocher. O autor concluiu que os dois componentes principais explicaram 44,6% da variância contida nos dados originais, enquanto a inclusão do terceiro componente elevou para 57,09%.

Samal et al. (2003), avaliando 20 variedades de cajueiro através de oito componentes morfométricas relacionadas com o padrão de ramificação, florescimento, razão sexual entre flores na panícula e de produção de castanha, por um período de três anos consecutivos, evidenciaram a formação de quatro grupos distintos com nível de similaridade igual ou superior a 70%. Entretanto, o maior grupo foi formado por 12 genótipos, enquanto dois grupos foram formados cada um por um genótipo apenas.

Estudos de diversidade baseados na análise de vários caracteres morfológicos, tomados de cada indivíduo ou acesso, podem ser realizados por meio do emprego de métodos multivariados. A confiabilidade dos resultados é maior quando os dados são obtidos a partir de um delineamento experimental com repetições. Entretanto, esta estratégia é muito difícil quando se trabalha com plantas perenes arbóreas, como no caso do cajueiro, e impraticável quando se avaliam indivíduos de populações naturais (PESSONI, 2007).

5.3. Análise de agrupamento

De acordo com a Tabela 09, observa-se a formação de 11 grupos e 15 subgrupos. Destaque para o grupo XI com apenas uma progênie (CNPAT 92-331).

Tabela 09. Subgrupos formados pelas 50 progênies de caju baseado na dissimilaridade expressa pela distância Euclidiana.

| GRUPO | SUBGRUPO | PROGÊNIES |
|-------|-------------|---|
| I | Subgrupo I | CNPAT 92 -54, CNPAT 92-58, CNPAT 92-76, CNPAT 92-88, CNPAT 92-83. |
| | Subgrupo II | Progênie CP 06. |
| II | Subgrupo I | CNPAT 92-62, CNPAT 92-346. |
| | Subgrupo II | CNPAT 92-371. |
| III | Subgrupo I | CNPAT 92-377, CNPAT 92-378, CNPAT 92-01, CNPAT 92-337. |
| | Subgrupo II | CNPAT 92-92, CNPAT 92-322, CNPAT 92-73, CNPAT 92-314, CNPAT 92-30, CNPAT 92-50, CNPAT 92-312, CNPAT 92-67, CNPAT 92-385, CNPAT 92-353, CNPAT 92-52. |
| IV | Subgrupo I | CNPAT 92-26, CNPAT 92-46. |
| V | Subgrupo I | CNPAT 92-05, CNPAT 92-343, CNPAT 92-11, CNPAT 92-20, CNPAT 92-335. |
| | Subgrupo II | CNPAT 92-323, CNPAT 92-382, Progênie CP 06, CNPAT 92-354, CNPAT 92-338, CNPAT 92-27, CNPAT 92-45, CNPAT 92-327. |
| VI | Subgrupo I | CNPAT 92-10, CNPAT 92-71. |
| VII | Subgrupo I | CNPAT 92-339, CNPAT 92-347. |
| VIII | Subgrupo I | CNPAT 92-329, CNPAT 92-333. |
| IX | Subgrupo I | CNPAT 92-40, CNPAT 92-56. |
| X | Subgrupo I | CNPAT 92-330, CNPAT 92-342. |
| XI | Subgrupo I | CNPAT 92-331. |

As 50 progênes avaliadas foram separadas em 11 grupos, quando se fez um corte vertical a uma distância de ligação em torno de 18% no agrupamento hierárquico das progênes com base nas variáveis respostas avaliadas (Figura 10). Esse ponto de corte permite visualizar os 11 grupos formados onde o último ficou isolado, apenas com a progênie CNPAT 92-331 (33).

Pelo fato da progênie CNPAT 92-331 (33) ter constituído um grupo isolado das demais, conclui-se que a mesma seja a mais divergente entre todas as outras, onde também podem-se enfatizar as progênes CNPAT 92-330 (32) e CNPAT 92-342 (39) como mais divergentes entre as demais.

Observa-se também que as progênes que formam o grupo I CNPAT 92-54 (15) e CNPAT 92-58 (17) são as mais similares (95%).

Pode-se observar também que as progênes CNPAT 92-76 (22), CNPAT 92-88 (24) e CNPAT 92-83 (23), todas oriundas da Fazenda Itaueira, ficaram locadas no subgrupo I do grupo I, no entanto, a progênie CNPAT 92-92 (25), também oriunda do mesmo local, ficou no subgrupo 2 do grupo 3.

Segundo Rahman et al. (2002) a identificação de genótipos superiores com base na divergência genética é a estratégia mais adequada para iniciar um programa de melhoramento. Sendo importante ressaltar que é mais efetivo realizar cruzamentos entre genótipos altamente divergentes, e que também apresentem bom potencial produtivo.

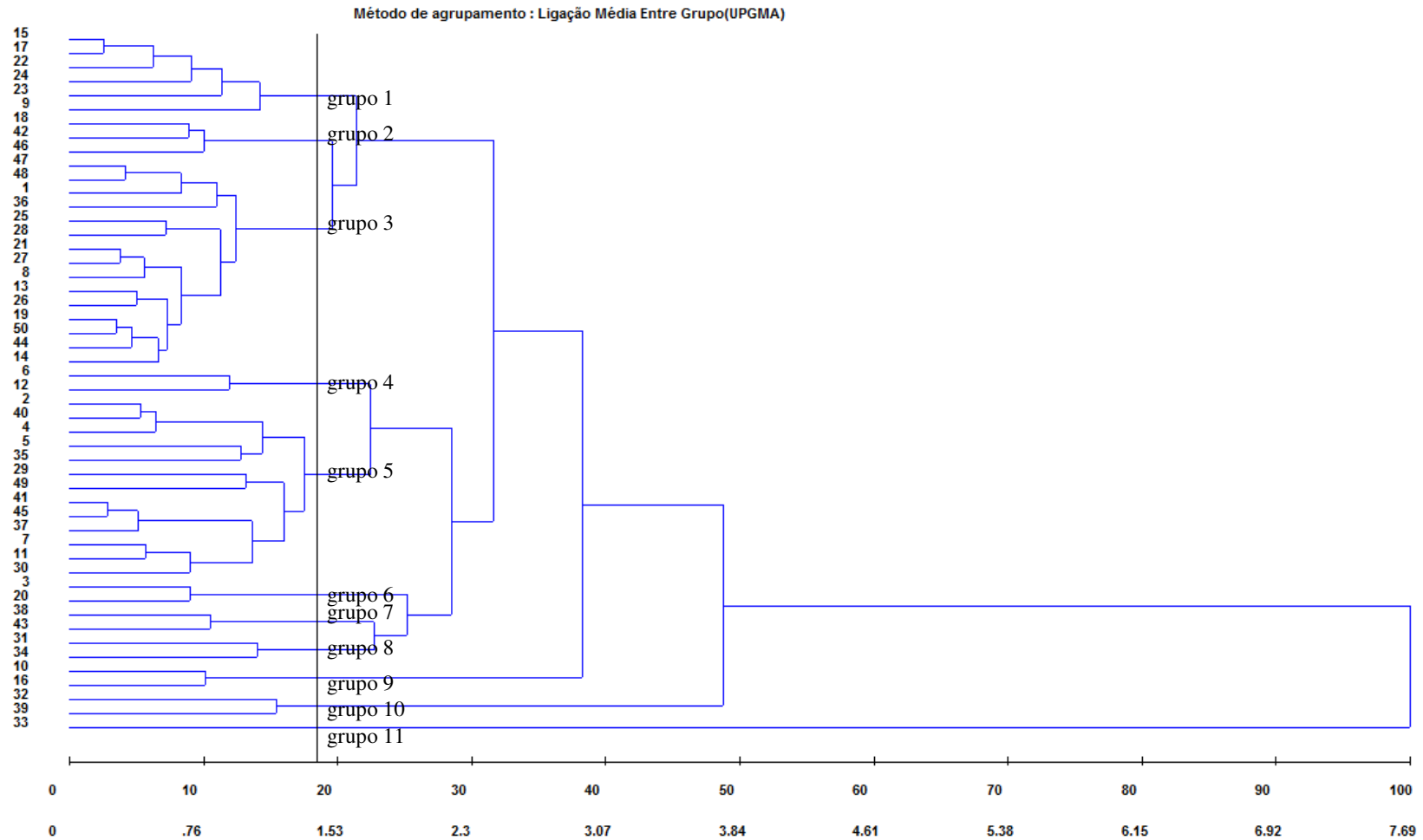


Figura 11. Dendrograma representativo da dissimilaridade genética entre 50 progênies de cajueiro anão precoce pelo método da ligação média entre grupo (UPGMA), utilizando-se a distância Euclidiana (D) como medida de dissimilaridade.

É importante ressaltar que entre as análises molecular e quantitativa, não foram observadas relações diretas entre os dados encontrados, haja vista que na análise molecular as progênes mais divergentes foram as seguintes: CNPAT 92-56 (16), CNPAT 92-62 (18) e CNPAT 92-385 (50). Na análise quantitativa as progênes mais divergentes foram CNPAT 92-331 (33), CNPAT 92-342 (39) e CNPAT 92-330 (32). O baixo número de caracteres avaliados pode ter contribuído para que os resultados tenham sido diferentes além do que, correlações de marcadores moleculares com caracteres quantitativos que são altamente influenciados pelo ambiente é geralmente baixa e de difícil detecção. Outros caracteres morfológicos devem ser levados em consideração para melhorar tal comparação e divisão dos grupos.

Archak. et al. (2003) comparando a eficiência e utilidade de três tipos de marcadores moleculares (RAPD, AFLP, ISSR) e de descritores morfológicos na medida de variação e de discriminação genotípica em germoplasma de caju, não observou ocorrência de correlação entre o conjunto de 27 descritores morfométricos utilizados e os marcadores moleculares.

De acordo com Franco et al. (2001), quando se dispõe de dados fenotípicos morfológicos e de marcadores moleculares para um conjunto de genótipos, os estudos de diversidade e de classificação hierárquica são realizados de forma independente, uma análise é baseada nos dados morfológicos, através do cálculo de uma distância métrica padrão (tal como o quadrado da Distância Euclidiana) e da aplicação de uma estratégia de agrupamento como UPGMA ou Ward a outra classificação é obtida baseada nos atributos moleculares, através da determinação da similaridade ou dissimilaridade genética entre os indivíduos, também seguido da aplicação de uma estratégia de agrupamento dos genótipos.

6. CONCLUSÕES

- Há variabilidade genética na população em estudo que pode ser explorada no programa de melhoramento genético através da seleção de genitores para formar combinações híbridas desejáveis para a obtenção de genótipos superiores.
- Na análise molecular utilizando o método de agrupamento UPGMA os grupos 13 e 14 são aqueles que possuem progênes mais divergentes. As progênes CNPAT 92-56 (16), CNPAT 92-62 (18) e CNPAT 92-385 (50) são as mais divergentes, enquanto as mais similares em ambas as análises foram: CNPAT 92-331 (33) e CNPAT 92-335 (35) oriundas do grupo I, subgrupo I.
- O iniciador mais informativo é o ISSR 825 por apresentar um maior número de bandas polimórficas.
- Na análise quantitativa, a progênie mais divergente foi a CNPAT 92-331 (33), se destacando como aquela que possui maior distância genética entre todas as demais seguido das progênes CNPAT 92-330 (32) e CNPAT 92-342 (39). As mais similares foram CNPAT 92-54 (15) e CNPAT 92-58 (17).
- Não são observadas relações entre os resultados das análises molecular e quantitativa utilizadas. É necessário reunir maior número de características para que haja uma maior proximidade dos valores dos resultados das análises molecular e quantitativa.

7. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J.I.L.; ARAÚJO, F.E.; LOPES, J.G.V. Evolução do cajueiro anão precoce na Estação Experimental de Pacajus, Ceará. Fortaleza: EPACE, 1993. 17p. (**EPACE, Documentos, 6**).

ANDERSON, J.A., G.A. CHURCHILL, J.E. AUTRIQUE, S.D. TANKSLEY; M.E. Sorrells. 1993. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. **Genome**, 36: 181-186.

ARCHAK, S; GAIWARD. A.B; GUATAM, D.; RAO, E.V.V.B.; SWAMY, K. R. M. Comparative assesment of DNA fingerprint techinques (RAPD, ISSR and AFLP) for genetic analysis of cashew (*Anacardium occidentale* L.) acessions of Índia. **Genome**, v. 46. p 363 – 369. 2003a.

ARCHAK, S; GAIWARD. A.B; GUATAM, D.; RAO, E.V.V.B.; SWAMY, K. R. M.; KARIHALOO, J.L. DNA fingerprint DNA of Indian cashew (*Anacardium occidentale* L.) varieties using RAPD and ISSR techniques. **Euphytica**. V.230, p. 397-404. 2003b.

AUGUSTIN, E. et al. Caracterização de variedades de batata doce (*Ipomoea batatas* L.) através de descritores morfológicos e enzimáticos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, p.49-53, 2000.

BARROS, L. M.; ARAÚJO, F.E.; ALMEIDA, J.I.L.; TEIXEIRA, L.M.S. A cultura do Cajueiro Anão. Fortaleza: EPACE, 1984. 67p. (**EPACE, Documentos, 3**).

BARROS, L.M. Melhoramento. In: LIMA, V.P.M.S. (Org.). A cultura do cajueiro no Nordeste do Brasil. Fortaleza: BNB/ETENE, 1988. p. 321-356 (**BNB/ETENE, Estudos Econômicos e Sociais, 35**).

BARROS, L.M. **Caracterização morfologia e izoenzimática do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) tipos comum e anão precoce, por meio de técnica multivariadas**. 1991. 256p. Tese (Doutorado em genética e melhoramento de plantas) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/Universidade de São Paulo, Piracicaba,SP, 1991.

BARROS, L. de M., PIMENTEL, C.R.M, CORREA, M.P.F, MESQUITA, A.L.M. Recomendações técnicas para a cultura do cajueiro-anão-precoce. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 1993. 65p. (EMBRAPA – CNPAT. **Circular Técnica, 1**).

BARROS, L.M; CRISÓSTOMO, J.R. Melhoramento genético do cajueiro. In:ARAÚJO, J.P.P.; SILVA, V.V. da (Orgs.) **Cajucultura: modernas técnicas de produção**. Fortaleza:Embrapa-CNPAT, 1995. p. 79-93.

BARROS, L. de M. Botânica, origem e distribuição geográfica: IN: ARAÚJO, J.P.P.; SILVA, V.V (org). **Cajucultura: modernas técnicas de produção**. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 1995. p. 55-71.

BARROS, L. de M.; PAIVA, J.R. de; CAVALCANTI, J.J.V. Cajueiro anão precoce. **Biotecnologia**, v.2, n.6, p.18-21, 1998.

BARROS, L.M.; CAVALCANTI, J.J.V.; PAIVA, J.R.; CARDOSO, J.E.; CORRÊA, M.P.F. LIMA, A.C. Desempenho de clones de cajueiro anão em condições de sequeiro. Embrapa Agroindústria Tropical: **Boletim de pesquisa**, n. 29, 22p. 2000.

BARROS, L.M.; CAVALCANTI, J.J.V.; PAIVA, J.R.; CRISÓSTOMO, J.R.; CORRÊA, M.P.F.; LIMA, A.C. Seleção de clones de cajueiro anão precoce para o plantio comercial no Estado do Ceará. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n.11, p. 2197-2204, 2000.

BARROS, L.M.; PAIVA, J.R.; CAVALCANTI, J.J.V.; ARAÚJO, J.P.P. Cajueiro. In: BRUCKNER, C.H. (Ed.). **Melhoramento de fruteiras tropicais**. Viçosa: UFV, 2002. p. 159-176.

BARROS, L.M.; AQUINO, A.R.L de.; PAIVA, F.F. de A. **O potencial da cajucultura nas savanas tropicais**. Fortaleza:Embrapa Agroindústria Tropical: Documentos, n. 44, 25P. 2001

BARROS, L.M. Introdução. In: BARROS, L.M. (ed.) Caju-produção: aspectos técnicos. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica, série frutas do Brasil**, n.30, 148p. 2002.

BORÉM, A. ; CAIXETA, E.T. **Marcadores Moleculares**. 2006. Viçosa, MG. 374p.; il.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLMICK, H. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. **American Journal of Human Genetics**. v.32, p.314-331, 1980.

BORNET, B.; BRANCHARD, M. Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) markers: reproducible and specific tools for genome fingerprint. **Plant Molecular Biology Reporter** 19: 209-215, 2001.

BRAINER, M. S. de C. P ; E. F. R. Proposta de zoneamento para a cajucultura. **Série documentos do ETENE, n.10**, Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2006.

CAMBUI, E. V. F.; ARAGÃO. W. M.; LEAL. M. de L. da S. Divergência genética entre cultivares de coqueiro anão por meio de marcadores morfológicos. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 1, p 804-806, jul.2007.

CARVALHO, L. P. de; LANZA, M. A.; FALLIERI, J.; SANTOS, J. W. dos. Análise da divergência genética entre acessos de banco ativo de germoplasma de algodão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 10, p. 1149-1155, 2003.

CAVALCANTI, J.J.V.; PINTO, C.A.B.P.; CRISÓSTOMO, J.R.; FERREIRA, D. F. Capacidade de Combinação do Cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) em Relação à Produção Precoce de Castanha. **Revista Ceres**, Viçosa, v.44, n.254, p. 466-472, 1997.

CAVALCANTI, J.J.V.; PAIVA, J.R.; PINTO, C.B.P.; CRISÓSTOMO, J.R.; FERREIRA, D.F. Análise dialélica para avaliação de híbridos interpopulacionais de cajueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.8, p.1567-1575. 2000.

CAVALCANTI, J. J. V.; PINTO, C. A. B. P.; CRISÓSTOMO, J. RFERREIRA, D. F. Análise dialéctica para avaliação de híbridos interpopulacionais de cajueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.8, p.1567-1575. 2000.

CAVALCANTI, J. J. V.; CRISOSTOMO, J. R.; BARROS, L. M.; PAIVA, J. R. Heterose em cajueiro anão precoce. **Ciencia e Agrotecnologia**, v.27, n.3, p.565-570. 2003.

CAVALCANTI, J.J.V.; CRISÓSTOMO, J.R.; BARROS, L.M; PAIVA, J.R. Heterose em cajueiro anão precoce. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, p.565-573. 2003.

CAVALCANTI, J.J.V. **Genetic mapping and QTL identification in cashew (*Anacardium occidentale* L.)**. 2004. 178 p. Tese de PhD - Reading: University of Reading, Reading, Inglaterra, 2004.

CAVALCANTI, J.J.V.; WILKINSON, M.J. The first genetic maps of cashew (*Anacardium occidentale* L.). **Euphytica**, Wageningen, v.157, n.1-2, p. 131-143, 2007.

CAVALCANTE, M. **Caracterização morfológica, desempenho produtivo e divergência genética de genótipos de batata-doce**. Dissertação de Mestrado. 46p. UFA. Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, AL. 2008.

CAVALCANTI, J.J.V. **Projeto inventário dos recursos florestais da Mata Atlântica: *Anacardium occidentale* – caju**. Disponível em: <<http://www.rbma.org.br>> acesso em: 10 de fev. 2009.

CAVALCANTI, J. J. V.; BARROS, L. de M. Avanços, Desafios e Novas Estratégias do Melhoramento Genético do Cajueiro no Brasil. **Anais/I Simpósio Nordeste de Genética e Melhoramento de Plantas**: Fortaleza:Embrapa Agroindústria Tropical, 2009. 210p.

CERQUEIRA, A.A; PAIVA, W. O de; PAIVA, M.R; AMORIM, J de C; AMARAL, Z.P de S; VIEIRA, J.V; BUSO, A. J; BUSO, G.S.C.; Análise da divergência genética entre linhagens de melão utilizando marcadores RADP. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, **boletim de pesquisa e desenvolvimento**, 2004. 18p.

CHASE, M. W.; HILLS, H. H. Silica gel: an ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies. **Taxon** 40, 1991.

CHIORATO, A. F. **Divergência genética em acessos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) do banco de germoplasma do Instituto Agrônomo - IAC**. Piracicaba, 2004. 98p, Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo.

CRISÓSTOMO, J.R.; GADELHA, J.W.R.; ARAÚJO, J.P.P. de; BARROS, L.de M. Consequências do plantio de sementes colhidas de plantas enxertadas ou de plantas de pé franco de cajueiro. **Caju Informativo**, Fortaleza, v.5, n.3. 1992.

CRISÓSTOMO, J.R.; BARROS, L. de M. **Melhoramento genético do cajueiro**. Fortaleza: Embrapa-CNPc, 39p, 1992.

CRISÓSTOMO, L.; RAIJ, B. VAN.; Cultivo do cajueiro anão precoce: aspectos fitotécnicos com ênfase na adubação e na irrigação. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. **Circular Técnico**, 08, 2001. p20.

CRISÓSTOMO, J.R.; CAVALCANTI, J.J.V.; BARROS, L.M.; ALVES, R.E.; FREITAS, J.G.; OLIVEIRA, J.N. Melhoramento do cajueiro-anão-precoce: avaliação da qualidade do pedúnculo e a heterose dos seus híbridos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 477-480, 2002.

CRISÓSTOMO, J.R.; BARROS, L.M.; PAIVA, J. R. de.; CAVALCANTI, J.J.V. Melhoramento genético do cajueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 2002.

CRISÓSTOMO, J. R.; CAVALCANTI, J. J. V.; BARROS, L. D.; ALVES, R. E.; FREITAS, J. G.; OLIVEIRA, O. N. Melhoramento do cajueiro-anão-precoce: avaliação da qualidade do pedúnculo e a heterose dos seus híbridos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.2, p.477-480. 2002.

CRISÓSTOMO, L.A.; SANTOS, F.J. de S.; OLIVEIRA, V. H. de.; VAN RAIJ, B.; BERNARDI, A. C. de C.; SILVA, C.A.; SOARES, I. Cultivo do cajueiro anão precoce: aspectos fitotécnicos com ênfase na adubação e na irrigação. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003. 8p. (Embrapa Agroindústria Tropical. **Circular Técnica**, 8).

CROXFORD, A. E.; ROBSON, M.; WILKINSON, M. J. Characterization and PCR multiplexing of polymorphic microsatellite loci in cashew (*Anacardium occidentale* L.) and their cross-species utilization. **Molecular Ecology Notes**, v.6, p. 249-251. 2006.

CRUZ, C.D; REGAZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**: Viçosa: UFV,1997. 390p.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. C. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2003.

CRUZ, C. D.; Programa Genes - **Análise multivariada e simulação**. 1. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2006. v. 1. 175 p.

DAROS, M. et al. Caracterização morfológica de acessos de batata doce. **Horticultura Brasileira**. V.20 p.43-47, 2002.

DHANARAJ, A. L.; RAO. E. V. V. B.; SWAMY, K. R. M.; BHAT, M. G.; PRASAD, D. T.; SONDUR, S. N. Using RAPDSs to assess the diversity in Indian cashew (*Anacardium occidentale* L.) germplasm. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.77, n.1, p. 41-47. 2002.

DIAS, L. A. S. Análises multidimensionais. In. ALFENAS, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins**: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos. Viçosa: UFV, 1998.

DIAS, F.T.C.; **Utilização de técnicas multivariadas e moleculares na caracterização e seleção de genótipos de feijão-caupi de porte ereto e ciclo precoce**, Fortaleza, 2009, 99p Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará.

DHANARAJ, A.L.; RAO, E.V.V.B.; SWAMY K.R.M.; BHAT, M.G.; PRASAD, D.T.; SONDUR, S.N. Using RAPDs to assess the diversity in Indian cashew (*Anacardium Occidentale* L.) germplasm. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.77, n.1, p.41-47. 2002.

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

EMATERCE. **Implementação da cajucultura**. Disponível em: http://www.ematerce.ce.br/index.php?option=com_content&view=article&id=1616&catid=1616&Itemid=76. Acesso em: 13 out. 2011.

EMBRAPA. **Cultivo do cajueiro**. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnpat.embrapa.br/fontesHTML/caju/cultivoca-juero>. Acesso em: 10 set. 2010.

EMBRAPA. Catálogo de produtos e serviços. **BRS 253 ou BRS Bahia 12**. Disponível em: http://www.catalogosnt.cnptia.embrapa.br/catalogo20/catalogo_de_produtos_e_servicos/arvore/CONT000gg40touv02wx5ok0bpmwv0dtizplk.html. Acesso em 03 fev. 2011.

EMBRAPA. Agência de informação Embrapa. **Caju**. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/caju/arvore/CONT000fieic8vq02wyiv80z4s4736vl29yl.html>. Acesso em 28 mar. 2012.

FALCONER, D. S. Introduction to quantitative genetics. 2 ed. London, **Longman**, 1981. 340p

FAO. 2006. FAOSTAT – **Food and agriculture organization of the United Nations**. Disponível em: <http://faostat.fao.org/faostat> Acesso em: 12 mar.2009.

FAO. 2008. FAOSTAT – **Food and agriculture organization of the United Nations**. Disponível em: <http://faostat.fao.org/faostat> Acesso em: 10 mar.2009.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567> Acesso 20 out. 2009.

FERREIRA, M. E.; GATTAPLAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília-Cenargen, 1998. 220p.

FIGUEIREDO, E.V.; ARAGÃO, W.M.; LEAL, M. de L. da S. Divergência genética entre cultivares de coqueiro anão por meio de marcadores morfológicos: **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, supl. 1, p. 804-806, jul. 2007.

FILGUEIRAS, H.A.C.; ALVES, R.E.; MOSCA, J.L.; MENEZES, J.B. Cashew apple for fresh consumption: research on harvest and postharvest handling technology in Brazil. **Acta Hortic, Leuven**, v. 485, p.155-160, 1999.

FRANÇA, F. M. C.; BEZERRA, F. F.; MIRANDA, E.Q de.; SOUSA NETO, J. M de. **Agronegócio do caju no Ceará: cenário atual e propostas inovadoras**. Fortaleza: FIEC-INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO INDUSTRIAL DO CEARÁ. 114p. 2008.

FRANCO, J.; CROSS A, J.; RIBANT, J. M.; BETRA, J.; WARBURTON, M. L.; KHAIRALLAH, M. A method for combining molecular markers and phenotypic attributes for classifying plant genotypes. **Theor. Appl. Genet.** V.103, p. 944-952. 2001.

FROTA, P.C.E.; PARENTE, J.I.G. Clima e fenologia. In: ARAÚJO, J.P.P.; SILVA, V.V. (Ed.) **Cajucultura: modernas técnicas de produção**. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 1995. p.43-54.

GATTO, L. **Dissimilaridade genética e análise de trilha quanto a características físicas e químicas do grão de aveia branca**. Passo Fundo – RS, 2005, 92p. Dissertação (mestrado) – Universidade de Passo Fundo.

GAZZOLA, R.; GAZZOLA, J.; COELHO, C.H.H.; SOUZA, G.S.; WANDER, A.E.; CABRAL, J.E.O. **Considerações sobre o mercado da castanha de caju – aspectos nutricionais e de mercado**. In CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL. Londrina: Sober, p.65, 2007

GELDERMANN, H. Investigations on inheritance of quantitative characters in animals by gene markers. **Theor. Appl. Genet.**, v. 46, p. 319-330, 1975.

GONÇALVES, P de S.; BORBOLETO. N.; Avaliação Genética de Progênie em Meios-Irmãos de Seringueira em diferentes regiões do Estado de São Paulo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 1997.

GUPTA, P.K.; VARSHNEY, R. K. The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. **Euphytica** 113: 163–185. 2000.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático da produção agrícola. <<http://www.sidra.ibge.gov.br/tabela/protabl.asp?c=1613&z=t&o=11&i=P>>. Acesso em 04 mai. 2010.

LANDE, R.; THOMPSON, R. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. **Genetics**, v. 124, p.743-756, 1990.

LANZA BIOTECNOLOGIA, **Informe agropecuário**, Belo Horizonte, v.21, n.204, p.1-128, 2000.

LEITE, L.A de S.A. **A agroindústria do caju no Brasil: políticas e transformações econômicas**. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 1994.195p.

LIMA, V. de P.M. dos S. Origem e distribuição geográfica. In: LIMA, V. de P.M. dos S.(Org.) **Cultura do cajueiro no Nordeste do Brasil**. Fortaleza: BNB-ETNE, 1988. p. 1-10.

LONDE, L. N.; RIBEIRO, E. B.; SOUZA, C. S de.; KERR, W. E.; BONETTI, A. M. Divergência genética entre populações de *Anacardium humile* St. Hill por marcadores AFLP 1. Epamig, **Circular Técnica**, n.105, Belo Horizonte-MG. 2010.

LUZ, V. K.; SILVA, V. N.; COIMBRA, J.L.M.; KOPP, M.M.; SOUZA, V. Q.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C. Alternativa para discriminação da dissimilaridade acessada por meio de dendogramas. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE AVEIA, 25. Ponta Grossa, 29 a 31 de março de 2005. **Resultados Experimentais**. Ponta Grossa: IAPAR, 2005. p.131 -134.

MALONE, G.; ZIMMER, P. D.; CASTRO, M. A. S.; ARIAS, L. N.; MENEGHELLO, G. E.; PESKE, S. T. Caracterização bioquímica e molecular de acessos de arroz vermelho coletados no estado do rio grande do sul. **Pesquisa Agropecuária Tropical** 37 (2): 77-85. 2007.

MELO, V.J.R. **Determinação de paternidade em pomares de sementes de Eucalyptus com marcadores microssatélites**. 2000. 183f. Dissertação (M.S.) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2000.

MELO FILHO, P.A.; SATOS, R.C.; MAFRA, R.C.; SANTOS, J.W. Classificação de germoplasma de *Dioscorea* sp. Através da análise dos componentes principais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, p. 619-623. 2000.

MITCHELL, J.D., MORI, S.A. The cashew and its relatives (*Anacardium*; Anacardiaceae). **Memoirs of the New York Botanical Garden**. V.42, 1987.

MOK, J. G.; SCHMIEDICHE, P. Collecting, characterizing and mainting sweet potato germoplasm in Indonesia. **Plant Genetic Resources News Letter**, v.118, p.12-18, 1998.

MORAIS, A.S.; MAIA, G.A.; FIGUEIREDO, R.W.; ALVES, R.E.; FILGUEIRAS, H.A.C.; MOURA, C.F.H. Armazenamento refrigerado sob atmosfera modificada de pedúnculos de cajueiro-anão-precoce dos clones CCP 76, END 157, END 183 e END 189. **Rev. Bras. Frutic**. Jaboticabal, v.24, n.3, p.647-650, 2002.

MOHAMMED, D.; WILSON, L. Modern systems of fruit growing and their application for the improvement of tropical fruit production. **Tropical Agriculture**, Guildford, v.61, n.2, p.137-142, 1984.

MNENEY, E.E.; MANTELL, S.H; BENNET, M. Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers to reveal genetic diversity within and between populations of cashew (*Anacardium occidentale*, L). **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, V.76, n.4, p.375-383. 2001

MULLIS, K.; FALOONA, F. 1987 Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase catalysed chain reaction. **Methods Enzymol**. 55:335-350p.

NETTO, D. A.M. ; SOUZA, I.R.P. ; OLIVEIRA, A. C. **Diversidade genética da coleção núcleo de milho, subgrupo endosperma dentado**. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2004. Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 25. Cuiabá, 2004,

OLIVEIRA, A. C. B. et al. Avaliação de divergência genética em batata doce por procedimentos multivariados. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.22, n.4, p.895-900, 2000.

OLIVEIRA, V.H. de; COSTA, V. S. de O. **Manual de Produção Integrada de Caju**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2005. 355p.

OLUFOWOTE, J.O.; XU, Y.B.; CHEN, X.L.; PARK, W.D.; BEACHELL, H.M.; DILDAY, R.H.; GOTO, M.; MCCOUCH, S.R. Comparative evaluation of within-cultivar variation of rice (*Oryza sativa* L.) using microsatellite and RFLP markers. **Genome**, v. 40, n. 3, p. 370-378, 1997.

PAIVA, J.R.; CRISÓSTOMO J.R.; BARROS, L. de M.; J.R.; PAIVA, W.O. Domesticação e melhoramento genético do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) no Brasil. **Informativo SBF**, Brasília, v.16, n.2, p.19-20, 1997.

PAIVA, J. R.; BARROS, L. M.; CRISÓSTOMO, J. R.; ARAÚJO, J. P. P.; ROSSETI, A. G.; CAVALCANTI, J. J. V.; FELIPE, E. M. Depressão por endogamia em progênies de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale* L.) var. nanum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, n.4, p.425-431. 1998.

PAIVA, J.R. de; BARROS, L. de M.; CAVALCANTI, J.J.V. **Seleção precoce de clones de cajueiro anão para o cultivo irrigado**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2000. 3p (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 46).

PAIVA, J. R. de; CRISÓSTOMO, João Ribeiro; BARROS, Levi de Moura. Recursos genéticos do cajueiro: coleta, conservação, caracterização e utilização. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003 (**Boletim de Pesquisa**).

PAIVA, J. R. de.; CAVALCANTI, J.J.V.; BARROS, L. de M.; CRISÓSTOMO, J.R **Cajueiro anão precoce clone 226 ou planalto**. Disponível em <<http://www.cnpat.embrapa.br/home/portofolio/tecnologia.php?id=19>>. Acesso em 02 jan. de 2011.

PAIVA, J.R.; BARROS, L.M. Clones de cajueiro-obtenção, características e perspectivas. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. 2004. 26p. (**Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 82**).

PEREIRA, F. H. F. PUIATTI, M.; MIRANDA, G.V.; SILVA, D.J.H.; FINGER, F.L. Divergência genética entre acessos de taro. **Horticultura Brasileira**. V.26, p. 55-60, 2004.

PESSONI, L. A. **Estratégias de Avaliação da Diversidade em Germoplasma de Caju (*Anacardium spp* L.)**. 2007. 159p. Tese (Doutorado em Genética e melhoramento). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2007.

PINHEIRO, C.R.; CAVALCANTI, J.J.V.; BORDALLO, P. do N.; BERTINI, C.H.D de M.; LIMA.E.N. Caracterização de genótipos de cajueiro por meio de marcadores microsatélites. XX Congresso Brasileiro de Fruticultura. **ANAIS**. 2008 . Vitória, ES.

PINHEIRO, C.R.; **Caracterização de genótipos de cajueiro por meio de marcadores microsatélites**. Monografia (graduação) – Universidade Federal do Ceará, 2007. 34f.

PORTALEDUCAÇÃO. 2011.<<http://www.portaleducacao.com.br/farmacia/artigos/8577/técnica-de-biologia-molecular-pcr-reacao-em-cadeia-da-polimerase>>. Acesso em 22 mar. de 2011.

RAHMAN, M.; HUSSAIN, D.; ZAFAR, Y. Estimation of Genetic Divergence among Elite Cotton Cultivars–Genotypes by DNA Fingerprinting Technology. **Crop Science**. v.42. p.2137–2144, 2002. RAO, R. C. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: J. Wiley.

RAMALHO, M.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. B. **Genética na agropecuária**. 2. ed. São Paulo:Globo; Lavras, MG:Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão, 1990. RAO, R.C. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: John Wiley and Sons, 1952. 390p.

REDDY, M.P.; SARLA, N; SIDDIQ, E.A; Inter simple sequence repeat (ISSR) Polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**. V.128, p. 9-17. 2002.

RITSCHER, P.S.; HUAMÁN, Z. Variabilidade morfológica da coleção de germoplasma de batata doce da Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, p.485-492, 2009.

SAIKI, R. K.; GELFAND, D. H.; STOEFFEL, S.; SHCARF, S.J.; HIGUCHI, G.; HORN, G.T.; MULLIS, K.B.; ERLICH, H.A. 1988 Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science** 239:487-491.

SANTOS, F.H.C dos.; CAVALCANTI. J.J.V.; SILVA, F.P. **Deteção de QTLs candidatos associados à coloração do pseudofruto do cajueiro** (*Anacardium occidentale* L.). In: XX Congresso Brasileiro de Fruticultura Tropical, 2008, Vitória. XX Congresso Brasileiro de Fruticultura Tropical, 2008

SANTOS, F.H.C dos. **Identificação de Qtls Candidatos Associados à Qualidade Pós-Colheita do Pedúnculo de Caju**. Dissertação de Mestrado. 123p. UFC - Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, CE. 2008.

SEAGRI – Secretaria de Agricultura Irrigada do Estado do Ceará. **Renovação e modernização da cajucultura de sequeiro**. Disponível em: <<http://www.seagri.ce.gov.br/cajucultura.htm>> Acesso em 13 mar. de 2007.

SILVA, V.V da. **Caju. O produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa-SPI; Fortaleza: Embrapa-CNPAT,220p.;il. (Coleção 500 Perguntas 500 Respostas).1998.

SOUFRAMANEN. J.; GOLPALAKRISHNA. A. Comparative analysis of genetic in blackgram genotypes using RAPD and ISSR markers. **Theor Appl Genet**, 109: 1697-1693. 2004.

SOUSA JUNIOR, C. L. **Melhoramento de espécies alógamas**. In: NASS, L. L.; VALOUIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M. C.; (Ed.). Recursos genéticos e melhoramento: plantas. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p.159-2001.

SOUZA, S.A.C.D. **Avaliação de variabilidade genética em Musa spp utilizando marcadores microssatélites**. 2002. 86f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2002.

SOUZA, G. A.; CARVALHO, M. R. O.; MARTINS, E. R.; GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, L. O. Diversidade genética estimada com marcadores ISSR em populações brasileiras de *Zabrotes subfasciatus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.7, p.843-849, 2008.

TERZOPOULOS, P. J.; BEBELI, P. J. Genetic diversity analysis of Mediterranean faba bean (*Vicia faba* L.) with ISSR markers. **Field Crops Research**. v.108, p.39-44. 2008.

UKRAINETZ, N.K.; RITLAND, K.; MANSFIELD, S.D. Identification of quantitative trait loci for wood quality and growth across eight full-sib coastal Douglas-fir families. **Tree Genet. Genome**, v.4, p.159-170, 2008.

VAN ESBROECK, G.A.; BOWMAN, D.T.; CALHOUN, D.S.; MAY, O.L. Changes in the genetic diversity of cotton in the USA from 1970 to 19956. **Crop Sci**. V.38, p. 33-37, 1998.

VIDAL NETO, C.; BERTINI, C. H. C. de. M.; ARAGÃO, F. A. S.; CAVALCANTI, J. J. V. O melhoramento genético no contexto atual: **Anais/I Simpósio Nordeste de Genética e Melhoramento de Plantas**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2009. 210p.

WADT, L.H de O. **Avaliação da Divergência Genética em Coqueiro (*Cocos nucifera* L.) usando marcadores RAPD em Amostras de Plantas Individuais ou Compostas**; Dissertação de Mestrado, Rio de Janeiro, 1997.

WOLFE, A.D.; LISTON, A. **Contributions of PCR-based methods to plant systematics and evolutionary biology**. In: SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S.; DOYLE, J.J. (Ed.). *Molecular systematics of plants II: DNA sequencing*. Boston: Kluwer, 1998. p.43-86.

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

WIETHÖLTER, P. **Análise da variabilidade genética em genótipos de milho crioulo (*Zea mays* ssp. *Mays*)**. Porto Alegre (RS), 77p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

ZIETKIEWICZ, et al 1994. Genome fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics** **20**: 173-183.

ZUCCHI, M.I.; **Análise da Estrutura Genética de *Eugenia dysenterica* DC utilizando marcadores RAPD e SSR**. 2002, 148f. Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

ANEXOS

ANEXO A. Dados referentes à análise quantitativa médias da altura da planta em metros e diâmetro da copa (m).

| MÉDIAS | | | |
|----------------------|----------------|---------------------------------------|------------------------------------|
| Identificação | parcela | Média altura da planta (m) | Média diâmetro copa (m) |
| 01 | CNPAT92-01 | 2,2 | 3,55 |
| 02 | CNPAT92-05 | 2 | 4,5 |
| 03 | CNPAT92-10 | 3 | 4,55 |
| 04 | CNPAT92-11 | 2,3 | 4,6 |
| 05 | CNPAT92-20 | 1,95 | 3,65 |
| 06 | CNPAT92-26 | 2,65 | 3,6 |
| 07 | CNPAT92-27 | 2,4 | 4,1 |
| 08 | CNPAT92-30 | 1,7 | 3,4 |
| 09 | Progênie CP06 | 2,05 | 2,6 |
| 10 | CNPAT92-40 | 1,5 | 2,2 |
| 11 | CNPAT92-45 | 2,5 | 3,9 |
| 12 | CNPAT92-46 | 2,45 | 4,25 |
| 13 | CNPAT92-50 | 1,85 | 3,55 |
| 14 | CNPAT92-52 | 2,1 | 3,7 |
| 15 | CNPAT92-54 | 1,5 | 2,8 |
| 16 | CNPAT92-56 | 1,7 | 2,6 |
| 17 | CNPAT92-58 | 1,6 | 2,77 |
| 18 | CNPAT92-62 | 1,35 | 3,3 |
| 19 | CNPAT92-67 | 1,85 | 4,05 |
| 20 | CNPAT92-71 | 2,6 | 4,5 |
| 21 | CNPAT92-73 | 1,87 | 3,5 |
| 22 | CNPAT92-76 | 1,7 | 2,95 |
| 23 | CNPAT92-83 | 1,3 | 3 |
| 24 | CNPAT92-88 | 1,35 | 2,4 |
| 25 | CNPAT92-92 | 2,2 | 3,4 |

ANEXO B. Dados referentes à análise quantitativa médias da altura da planta em metros e diâmetro da copa (continuação).

| MÉDIAS | | | |
|----------------------|----------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Identificação | Parcela | Média altura planta (m) | Média diâmetro copa (m) |
| 26 | CNPAT92-312 | 1,95 | 3,8 |
| 27 | CNPAT92-314 | 1,95 | 3,53 |
| 28 | CNPAT92-322 | 2,35 | 3,5 |
| 29 | CNPAT92-323 | 2,7 | 4,65 |
| 30 | CNPAT92-327 | 2,6 | 3,8 |
| 31 | CNPAT92-329 | 3 | 6 |
| 32 | CNPAT92-330 | 2,95 | 4,7 |
| 33 | CNPAT92-331 | 4,4 | 5,15 |
| 34 | CNPAT92-333 | 2,5 | 5,5 |
| 35 | CNPAT92-335 | 1,85 | 3,95 |
| 36 | CNPAT92-337 | 2,6 | 3,95 |
| 37 | CNPAT92-338 | 2,6 | 4,8 |
| 38 | CNPAT92-339 | 3,15 | 5 |
| 39 | CNPAT92-342 | 2,5 | 5,4 |
| 40 | CNPAT92-343 | 2,15 | 4,4 |
| 41 | Progenie CP06 | 2,6 | 4,6 |
| 42 | CNPAT92-346 | 1,5 | 3,45 |
| 43 | CNPAT92-347 | 3,45 | 4,75 |
| 44 | CNPAT92-353 | 1,95 | 3,8 |
| 45 | CNPAT92-354 | 2,65 | 4,55 |
| 46 | CNPAT92-371 | 1,7 | 3 |
| 47 | CNPAT92-377 | 2,25 | 3,9 |
| 48 | CNPAT92-378 | 2,3 | 4,1 |
| 49 | CNPAT92-382 | 2,85 | 4,35 |
| 50 | CNPAT92-385 | 2 | 4,05 |

ANEXO C. Dados referentes à análise quantitativa, médias do número de castanhas e produção, anos 1995, 1996 e 1997.

| Progênie | Número de castanhas (média/planta) | Produção (média/planta em gramas) |
|-----------------|---|--|
| CNPAT92-01 | 38,5 | 430,67 |
| CNPAT92-05 | 71,17 | 698,33 |
| CNPAT92-10 | 11,17 | 78,67 |
| CNPAT92-11 | 69 | 693 |
| CNPAT92-20 | 85,05 | 780,58 |
| CNPAT92-26 | 105 | 1026,33 |
| CNPAT92-27 | 68 | 652,5 |
| CNPAT92-30 | 23,67 | 211,67 |
| Progênie CP06 | 1,67 | 16,67 |
| CNPAT92-40 | 0 | 0 |
| CNPAT92-45 | 0 | 0 |
| CNPAT92-46 | 87,83 | 1041 |
| CNPAT92-50 | 35,83 | 299,67 |
| CNPAT92-52 | 19,7 | 212 |
| CNPAT92-54 | 5,33 | 39,67 |
| CNPAT92-56 | 0 | 0 |
| CNPAT92-58 | 7,8 | 68,67 |
| CNPAT92-62 | 50,5 | 395,67 |
| CNPAT92-67 | 34 | 214 |
| CNPAT92-71 | 5,67 | 48,33 |
| CNPAT92-73 | 18,44 | 130,89 |
| CNPAT92-76 | 18,83 | 144 |
| CNPAT92-83 | 37 | 197 |
| CNPAT92-88 | 9,5 | 63,17 |
| CNPAT92-92 | 9,83 | 88,17 |

ANEXO D. Dados referentes à análise quantitativa, médias do número de castanhas e produção, anos 1995, 1996 e 1997 (continuação).

| Progênie | Número de castanhas (média/planta) | Produção (média/planta em gramas) |
|-----------------|---|--|
| CNPAT 92-314 | 41,17 | 348,33 |
| CNPAT 92-314 | 28,08 | 192,17 |
| CNPAT 92-322 | 30,5 | 182,33 |
| CNPAT 92-323 | 30,5 | 748,67 |
| CNPAT 92-327 | 49,33 | 423,33 |
| CNPAT 92-327 | 37,67 | 252 |
| CNPAT 92-330 | 168 | 977,17 |
| CNPAT 92-331 | 319,67 | 1801,67 |
| CNPAT 92-333 | 44,67 | 341,67 |
| CNPAT 92-335 | 44,67 | 617 |
| CNPAT 92-337 | 31,5 | 183,17 |
| CNPAT 92-338 | 60,33 | 440 |
| CNPAT 92-339 | 59,67 | 557,5 |
| CNPAT 92-342 | 181 | 1062,67 |
| CNPAT 92-343 | 78,33 | 607,17 |
| Progênie CP 06 | 49 | 384,67 |
| CNPAT 92-346 | 70,33 | 565,5 |
| CNPAT 92-347 | 83,83 | 449,17 |
| CNPAT 92-353 | 30,83 | 241,67 |
| CNPAT 92-354 | 44,67 | 444,33 |
| CNPAT 92-371 | 55 | 400,17 |
| CNPAT 92-377 | 42 | 304,33 |
| CNPAT 92-378 | 35,67 | 356,5 |
| CNPAT 92-382 | 76,67 | 831,33 |
| CNPAT 92-385 | 31,67 | 182,67 |

ANEXO E. Relação de primers ISSR utilizados na análise de divergência genética de 50 progênies de cajueiro anão precoce, com respectivas temperaturas de pareamento (Tp), número de bandas totais (NBT), número de bandas polimórficas (NBP) e percentagem de polimorfismo (P%).

| Primer | Tp (°C) | NBT | NBP | P (%) |
|---------------|----------------|------------|------------|--------------|
| 811 | 45.8 | 06 | 03 | 50,00 |
| 812 | 44.7 | 03 | 01 | 33,33 |
| 818 | 50 | 04 | 02 | 50,00 |
| 823 | 47.1 | 04 | 02 | 50,00 |
| 825 | 50.4 | 08 | 04 | 50,00 |
| 835 | 49.2 | 08 | 02 | 25,00 |
| 836 | 47.9 | 05 | 02 | 40,00 |
| 846 | 50.8 | 05 | 02 | 40,00 |
| 847 | 52.1 | 06 | 02 | 33,33 |
| 848 | 51.7 | 06 | 02 | 33,33 |
| 849 | 50.4 | 07 | 02 | 28,57 |
| 856 | 51.8 | 09 | 03 | 33,33 |
| TOTAL | - | 71 | 27 | 38,02 |

ANEXO F. Relação de primers ISSR utilizados na análise de divergência genética de 50 progênies de cajueiro anão precoce, com respectivas temperaturas de pareamento (Tp), número de bandas totais (NBT), número de bandas polimórficas (NBP) e amplitude dos fragmentos totais (pb).

| Primer | Tp (°C) | NBT | NBP | Amplitude dos fragmentos (pb) |
|---------------|----------------|------------|------------|--------------------------------------|
| 811 | 45.8 | 06 | 03 | 380-540 |
| 812 | 44.7 | 03 | 01 | 660 |
| 818 | 50 | 04 | 02 | 590-660 |
| 823 | 47.1 | 04 | 02 | 340-580 |
| 825 | 50.4 | 08 | 04 | 300-590 |
| 835 | 49.2 | 08 | 02 | 250-630 |
| 836 | 47.9 | 05 | 02 | 350-540 |
| 846 | 50.8 | 05 | 02 | 320-390 |
| 847 | 52.1 | 06 | 02 | 480-620 |
| 848 | 51.7 | 06 | 02 | 330-620 |
| 849 | 50.4 | 07 | 02 | 410-440 |
| 856 | 51.8 | 09 | 03 | 190-360 |
| TOTAL | - | 71 | 27 | - |

ANEXO G. Análise de agrupamento (UPGMA) realizado pelo software GENES.

```

=====
Programa GENES                               Análise de Agrupamento
Arquivo de dados
Número de variáveis                           4
Matriz dispersão                             XXXXX
Número de genótipos                          50
Padronização dos dados                       Sim
Arquivo de Saída
Número de simulações                          100
Método de agrupamento                       Ligação Média Entre Grupo(UPGMA)
Arquivo com rótulos
Data                                          01-06-2011
=====

```

Informações Preliminares

| Estágio | Acesso x | Acesso y | Distância | Distância(%) | |
|---------|----------|----------|-----------|--------------|----------|
| 1 | 15 | 17 | .1966 | 2.5561 | |
| 2 | 41 | 45 | .2155 | 2.8011 | .2227 |
| 3 | 19 | 50 | .2716 | 3.5302 | .2766 |
| 4 | 21 | 27 | .2891 | 3.7573 | .2984 |
| 5 | 47 | 48 | .3198 | 4.1564 | .3227 |
| 6 | 19 | 44 | .3583 | 4.6577 | .3519 * |
| 7 | 13 | 26 | .3865 | 5.0239 | .3786 * |
| 8 | 37 | 41 | .3967 | 5.1567 | .3978 |
| 9 | 2 | 40 | .4056 | 5.2719 | .4127 |
| 10 | 8 | 21 | .43 | 5.5888 | .4291 * |
| 11 | 7 | 11 | .438 | 5.6928 | .4426 |
| 12 | 15 | 22 | .4779 | 6.2124 | .4616 * |
| 13 | 2 | 4 | .4918 | 6.3931 | .4786 * |
| 14 | 14 | 19 | .5112 | 6.645 | .4955 * |
| 15 | 25 | 28 | .5522 | 7.1778 | .5165 * |
| 16 | 13 | 14 | .5642 | 7.334 | .5352 * |
| 17 | 8 | 13 | .6419 | 8.344 | .5646 * |
| 18 | 1 | 47 | .6431 | 8.36 | .588 * |
| 19 | 18 | 42 | .6878 | 8.9411 | .6145 * |
| 20 | 7 | 30 | .6889 | 8.9553 | .6362 * |
| 21 | 3 | 20 | .6899 | 8.9673 | .6544 * |
| 22 | 15 | 24 | .7022 | 9.1282 | .6715 * |
| 23 | 18 | 46 | .7722 | 10.0369 | .6951 * |
| 24 | 10 | 16 | .776 | 10.0875 | .7157 * |
| 25 | 38 | 43 | .8083 | 10.5063 | .7373 * |
| 26 | 1 | 36 | .8483 | 11.0261 | .7607 * |
| 27 | 8 | 25 | .8705 | 11.3156 | .7835 * |
| 28 | 15 | 23 | .8722 | 11.3375 | .8036 * |
| 29 | 6 | 12 | .9167 | 11.916 | .826 * |
| 30 | 1 | 8 | .9554 | 12.4191 | .8497 * |
| 31 | 5 | 35 | .984 | 12.7902 | .8735 * |
| 32 | 29 | 49 | 1.011 | 13.141 | .8973 * |
| 33 | 7 | 37 | 1.0477 | 13.6186 | .922 * |
| 34 | 31 | 34 | 1.0762 | 13.9885 | .9467 * |
| 35 | 9 | 15 | 1.0919 | 14.1937 | .9702 * |
| 36 | 2 | 5 | 1.1042 | 14.3531 | .9925 * |
| 37 | 32 | 39 | 1.1884 | 15.4472 | 1.0198 * |
| 38 | 7 | 29 | 1.2307 | 15.9979 | 1.0481 * |
| 39 | 2 | 7 | 1.3492 | 17.5382 | 1.0843 * |
| 40 | 1 | 18 | 1.5047 | 19.5597 | 1.1315 * |
| 41 | 1 | 9 | 1.6497 | 21.444 | 1.1877 * |
| 42 | 2 | 6 | 1.7237 | 22.4051 | 1.2446 * |
| 43 | 31 | 38 | 1.7466 | 22.7029 | 1.2972 * |
| 44 | 3 | 31 | 1.9407 | 25.2258 | 1.3624 * |
| 45 | 2 | 3 | 2.1938 | 28.5167 | 1.4446 * |
| 46 | 1 | 2 | 2.4301 | 31.5883 | 1.5405 * |
| 47 | 1 | 10 | 2.9415 | 38.2353 | 1.6775 * |
| 48 | 1 | 32 | 3.7507 | 48.7534 | 1.886 * |
| 49 | 1 | 33 | 7.6931 | 100. | 2.6145 * |

Ponto de Corte = média + kDP

k = 1,25 - Mojema(1977)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

F961d Frota Júnior, José Itamar.
 Divergência genética entre progênes meios irmãos de cajueiro de cajueiro anão precoce
/ José Itamar Frota Júnior. – 2012.
 106 f. : il. color., enc. ; 30 cm.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (Rede Nordeste de Biotecnologia), Fortaleza, 2012.

Área de Concentração: Biotecnologia em Recursos Naturais.

Orientação: Prof. Dr. Benildo Sousa Cavada.

Coorientação: Prof. Dr. José Jaime Vasconcelos Cavalcanti.

1. Divergência genética. 2. Cajueiro anão precoce. 3. Melhoramento genético. I. Título.

CDD 660.6
