

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
CAMPUS JATAÍ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**ESTUDOS DE ACESSOS DE *ANACARDIUM HUMILE*
A. ST. HILL POR MEIO DA CARACTERIZAÇÃO
MORFOLÓGICA E DE MARCADORES RAPD**

Raquel dos Santos Carvalho
Bióloga

JATAÍ – GOIÁS – BRASIL
Abril de 2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
CAMPUS JATAI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**ESTUDOS DE ACESSOS DE *ANACARDIUM HUMILE*
A. ST. HILL POR MEIO DA CARACTERIZAÇÃO
MORFOLÓGICA E DE MARCADORES RAPD**

Raquel dos Santos Carvalho

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sílvia Correa Santos

Co-orientador: Prof. Dr. Edésio Fialho dos Reis

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Goiás – UFG, Campus Jataí, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Produção Vegetal).

JATAÍ – GOIÁS – BRASIL

Abril de 2011

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

RAQUEL DOS SANTOS CARVALHO – filha de Mariana Gonçalves dos Santos e Jorides Francisco de Carvalho, nascida em Iaciara, Goiás, em 24 de junho de 1985. Em 2004 ingressou na Universidade Federal de Goiás- Campus Jataí onde, em 2007, obteve o título de Bióloga. Em Agosto de 2008 iniciou o Mestrado no curso de Pós- Graduação em Agronomia na UFG, na área de Fitotecnia, defendendo a dissertação no dia 11 de abril de 2011.

*“A minha mãe naquele dia me falou do mundo como ele é, parece que ela conhecia cada pedra que eu iria por o pé. E sempre ao lado do meu pai da pequena cidade ela jamais saiu. **Ela me disse assim: Meu filho vá com Deus, que este mundo inteiro é seu...**” (Joel Marques).*

DEDICO a meu irmão **Ricardo** que forneceu as condições para que eu me dedicasse aos estudos. Tu és meu exemplo de luta, coragem e dedicação. Ofereço meu amor incondicional e esta dissertação que é fruto de muita luta e renúncias... “Amigos pra sempre para sempre amigos sim, se DEUS quiser”. Serei eternamente grata.

OFEREÇO toda minha felicidade, expectativa, saudade e toda minha angústia na realização desta à **DEUS**, que me levou em seus braços nos momentos mais difíceis de minha vida, e aos meus pais **Mariana** e **Jorides** que sempre me dedicaram um amor incondicional e que mesmo distante se fizeram tão presentes em pensamento, coração e oração.

AGRADECIMENTOS

***“Se não houver a gratidão, a harmonia da família, a fidelidade dos amigos, o amor a Deus e ao semelhante, nenhum título acadêmico terá valor”
(autor desconhecido).***

A Universidade Federal de Goiás- Campus Jataí, pela formação profissional da graduação ao Mestrado.

Agradeço especialmente a minha orientadora professora Dra. Sílvia Correa Santos pela orientação, pelas conversas informais, pela liberdade e principalmente pela amizade que foi o suporte para um bom convívio e a realização desta.

A coordenação da Pós graduação na pessoa do prof. Dr. Edésio pela confiança e pela coorientação.

Ao Jefferson pela atenção, dedicação, profissionalismo, pelo suporte deste trabalho no laboratório de Genética e principalmente pela amizade. Sem você seria impossível a realização deste, meus sinceros agradecimentos.

Ao prof. Marco Aurélio Carbone e sua esposa Andréia, pelo carinho, amizade, confiança e conselhos que foram de grande importância.

A minha querida amiga Eleuzzy Moni do Carmo, pelo trabalho realizado junto a secretaria da Pós Graduação em Agronomia e pelo carinho.

Aos professores Dr. Frederico Augusto Guilherme, Dra. Claudia Scarelli dos Santos, Dra. Elci Mendes Piochon e a profa. Elaine Castelhana pelo incentivo e pela formação.

A minha família, em especial a minha tia Ermi (em memória).

Aos meus queridos amigos de Pós graduação em especial ao Aurélio, Luciene, Marcelo, Francys, Joyce e Marquinhos.

Meus agradecimentos mais que especiais a minha amiga Luciele e toda sua família e ao Jonathan, que foram meu porto seguro, obrigada pela amizade, amor e dedicação, vocês são como meus irmãos.

As funcionárias (os) da UFG- CAJ, em especial a Marinalva e a todos do setor do transporte.

As “minhas meninas da acadêmica”: Oreci, Karla, Fabiana, Balbina, Sibelle, Solange e Marilda, obrigada pelo carinho e atenção, pelas festinhas, pelas palavras de incentivo. Vocês ficaram pra sempre no meu coração.

As amigas que sempre estiveram ao meu lado quando eu mais precisei: Elaine, Christina, Jane, Mônica, Sônia e Kelciane, vocês são presentes de DEUS na minha vida, afinal, “intimidades e brincadeiras que só a gente entende”.

As amigas de Ipameri: Helen, Eliane, Terezilma, Joana, Karla, Juliana, Shirley, Neide, Rejane, Fernanda e tia Eleuza, que nunca deixaram a distância diminuir a amizade e o carinho.

Aos amigos de Jatai: Tairone, Eliane, Aline, Luciene, Betânia e Lidiane pelos momentos de lazer e pelo companheirismo.

Aos meus vizinhos que sempre me acolheram, em especial a Sueli e ao Eli D' Angelis, obrigada por tudo.

Ao meu namorado Abdias pela compreensão e amor. Aos meus sogros e minhas cunhadas Marinalva e Abnalva, vocês são minha segunda família.

E ao CNPq, CAPES e UFG pelo suporte financeiro a esta pesquisa.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xvi
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1. O Cerrado brasileiro	2
2.2. Aspectos gerais do gênero <i>Anacardium</i>	3
2.2.1 Botânica, distribuição e principais características	3
2.2.2. <i>Anacardium humile</i> A. St. Hill. (cajuzinho-do-cerrado)	5
2.3. Variabilidade genética e fluxo gênico	8
2.4. O uso de marcadores moleculares RAPD no melhoramento genético de plantas	9
3. OBJETIVOS	13
4. MATERIAL E MÉTODOS	14
4.1. Caracterização morfológica	15
4.1.1. Análise estatística dos dados morfológicos	16
4.2. Caracterização dos solos	17
4.3. Material vegetal e obtenção do DNA	17
4.3.1. Otimização do protocolo de extração de DNA do cajuzinho-do-cerrado	17

4.3.2.	Amplificação e obtenção dos dados moleculares	18
4.3.3.	Análise estatística dos dados moleculares	18
4.3.3.1.	Porcentagem de polimorfismo	19
4.3.3.2.	Análise de agrupamento	19
4.3.3.3.	Coeficiente de similaridade e dissimilaridade	19
4.3.3.4.	<i>Bootstrap</i> (Número Mínimo de Bandas)	20
4.3.3.5.	AMOVA (Análise Molecular de Variância)	21
4.3.3.6.	Caracterização da variabilidade	22
4.3.3.7.	Índice de Shannon	23
4.3.3.7.	Método de estimação do fluxo gênico	22
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1.	Análises Morfológicas	25
5.2.	Análises dos Solos	29
5.3.	Análises moleculares	30
6.	CONCLUSÕES	45
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Procedências dos 122 acessos de cajuzinho-do-cerrado.....	14
Tabela 2. Descritores utilizados na caracterização do cajuzinho-do-cerrado.....	16
Tabela 3. Esquema da Análise de Variância Molecular (AMOVA), para o caso de um grupo de populações independentes.....	21
Tabela 4. Contribuição relativa dos caracteres para divergência segundo Singh (1981).....	26
Tabela 5. Agrupamento de 11 amostras, originadas de diferentes municípios, de plantas de cajuzinho-do-cerrado com base no método de agrupamento de Tocher, para oito descritores avaliados.....	27
Tabela 6. Agrupamento dos 122 acessos de diferentes municípios, de plantas de cajuzinho-do-cerrado com base no método de agrupamento de Tocher, para oito descritores avaliados.....	27
Tabela 7. Análise física e química dos solos coletados nos 11 municípios de coleta de cajuzinho-do-cerrado.....	30
Tabela 8. Locais de coleta do cajuzinho-do-cerrado e características moleculares.....	34
Tabela 9. <i>Primers</i> selecionados que apresentaram melhor padrão de bandas polimórficas e monomórficas entre os municípios.....	35
Tabela 10. Matriz de distâncias entre acessos de cajuzinho-do-cerrado baseado em 146 marcadores RAPD.....	36

Tabela 11.	Diversidade genética de populações naturais de <i>Anacardium Humile</i> A. St. Hill.....	40
Tabela 12.	Parâmetros genéticos populacionais de <i>Anacardium humile</i> A St. Hill.....	42
Tabela 13.	Análise de Variância Molecular (AMOVA) de populações naturais de <i>Anacardium humile</i> A St. Hill.....	42
Tabela 14.	Análise de Variância dentro das procedências de cajuzinho-do-cerrado.....	43

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Área territorial das procedências avaliadas e os pontos de coleta dos acessos de cajuzinho-do-cerrado.....	15
Figura 2.	Dispersão gráfica em três Dimensões (3D) mostrando o agrupamento das 11 procedências a partir da análise de 8 descritores morfológicos (1-Aporé-GO, 2-Barra do Garça-MT, 3-Caiapônia-GO, 4-Chapadão do Céu-GO, 5-Santo Antônio do Descoberto-GO, 6-Doverlândia-GO, 7-Itarumã-GO, 8-Itajá-GO, 9-Jataí-GO, 10-Mineiros-GO e 11-Serranópolis-GO).....	28
Figura 3.	Dispersão gráfica em duas dimensões (2d) mostrando o agrupamento dos 122 acessos a partir da análise de 8 descritores morfológicos.....	29
Figura 4.	Géis do DNA obtido dos protocolos: A- Doyle & Doyle (1990); B- Faleiro et. al.(2003) e C- modificações de Faleiro et. al. (2003).....	31
Figura 5.	Produtos de ampliações de amostras de DNA genômico de cajuzinho-do-cerrado, obtidos com o uso de 10 iniciadores decâmeros na análise entre os 11 municípios(A-OPA04;B-OPM02;C-OPA08;D-OPA09;E-OPA11;F-OPB05;G-OPA18;H-OPM02;I-OPN05 e J-OPM03).....	33
Figura 6.	Dendrograma de distâncias genéticas entre 11 procedências de cajuzinho-do-cerrado obtido pelo método UPGMA, com base na matriz de marcadores de RAPD. Distância genética média = 0,37.....	38
Figura 7.	Dispersão gráfica em 2 dimensões (2D) relativa a formação de grupos dentro de procedências de cajuzinho-do-cerrado entre os 11 município (Aporé-GO; Δ Barra do Garça- MT; ● Caiapônia-GO ■	

Chapadão do Céu-GO; ▲ Doverlândia-GO; + Itajá-GO; *
Itarumã-GO; ○ Jataí-GO; □ Mineiros-GO ◆ Santo
Antônio do Descoberto-GO e ◇ Serranópolis-GO).....

Estudos de acessos de *Anacardium humile* A. St. Hill por meio da caracterização morfológica e de marcadores RAPD

RESUMO - O conhecimento da variabilidade genética do cajuzinho-do-cerrado é importante para maximizar o uso dos seus recursos genéticos para futuros programas de melhoramento e de conservação da espécie. No presente trabalho, a variabilidade genética de 122 acessos de *A. humile* procedentes de 11 municípios (procedências) do Cerrado, foi quantificada por meio de marcadores RAPD. Os *primers* com maior expressão foram OPA11 e 08. Os dez *primers* utilizados geraram 157 bandas, sendo 156 polimórficas (99%), com média de 15,6 bandas/*primer*. Grande variabilidade dentro de municípios foi detectada, sendo o polimorfismo superior a 90 %, exceto da procedência Jataí-GO. Os acessos de Caiapônia-GO e Santo Antônio do Descoberto-GO foram os mais distantes geneticamente. A dissimilaridade total entre acessos variou de 0,103 a 0,796, com médias de 0,390. Os acessos 87 e 114 de Serranópolis-GO e Santo Antônio do Descoberto-GO, respectivamente, foram os mais distantes geneticamente, demonstrando a importância dessas procedências no enriquecimento do banco de germoplasma da espécie. O cajuzinho-do-cerrado apresenta alta taxa de variabilidade genética sendo considerada uma espécie potencial em programas de conservação *in situ* e *ex situ* e em programas de melhoramento genético sendo que a maior parte desta está dentro de suas populações.

Palavras- chave: Anacardiaceae, Diversidade genética, Polimorfismo, recursos genéticos e banco de germoplasma.

Studies of acesses of *Anacardium humile* A St. Hill by means of the morphologic characterization and of markers RAPD

SUMMARY - The knowledge of the genetic variability of the bushy cashew is important to maximize the use of its genetic resources to future programs of improvement and conservation of the species. In this report, the genetic variability of 122 accesses of *A. humile* coming from 11 cities (provenances) from Cerrado was quantified through RAPD markers. The *primers* with bigger expression were OPA11 and 08. The ten *primers* used generated 157 bands, being 156 polymorphic (99%), with an average of 15,6 bands/ *primer*. It was detected a great variability in the towns, being the polymorphism higher than 90%, except the ones original from Jataí-GO. The accessions of Caiapônia-GO and Santo Antônio do Descoberto-GO were the most distant genetically. The total dissimilarity between accesses ranged from 0,103 to 0,796, with averages of 0,390. The accesses 87 and 114 from Serranópolis-GO and Santo Antônio do Descoberto-GO, respectively, were the most distant genetically, showing the importance of these provenances in the enrichment of the germoplasm bank of the specie. The cajuzinho-do-cerrado presents a high rate of genetic variability is considered a potential species in conservation programs in situ and ex situ and in breeding programs is that most of this is within their populations.

Keywords: Anacardiaceae, genetic diversity, polymorphism, genetic resources e germoplasm bank

1. INTRODUÇÃO GERAL

O cajuzinho-do-cerrado apresenta uma alta variabilidade morfológica a qual abrange desde o seu porte até o seu fruto. Estudos que visem à determinação da variabilidade genética buscando identificar procedências e/ou ambientes que apresentam acessos com divergências de alta magnitude poderão gerar subsídios para estudos sobre a sua potencialidade comercial. Segundo Corrêa (1984) e Almeida et al. (1998) o pedúnculo e a amêndoa dessa espécie é bastante apreciado na região do Cerrado. A espécie se encaixa como espécie perene susceptível a extinção devido o seu extrativismo predatório e pelo fato do Cerrado ter se tornado uma fronteira agrícola.

Nos últimos 30 anos, alguns estudos demonstraram que esta espécie possui atividade antifúngica, anti-rotavírus, antidiarréica, antiinflamatória, hipoglicemiante (Gonçalves et al., 2005; Lameira et al., 1997; Lans 1999).

Na literatura são encontrados muitos trabalhos com o gênero *Anacardium*, mas, em se tratando de espécie, poucos são encontrados com *Anacardium humile* A. St. Hill. Esta falta de estudos sobre a espécie abre possibilidades para o início de pesquisas a fim de se conhecer suas necessidades para planejar estratégias futuras de preservação e utilização da espécie (Carvalho et al., 2005).

Devido esta carência de informações genéticas do cajuzinho-do-cerrado, o uso de marcadores moleculares RAPD torna-se uma ferramenta essencial para fornecer estudos preliminares da espécie. Segundo Caixeta et al. (2006), a partir da técnica de RAPD, pode-se amplificar segmentos de DNA distribuídos ao acaso no genoma sem a necessidade do conhecimento prévio da sequência do DNA, sendo indicada para espécies pouco estudadas.

Os marcadores moleculares RAPD (polimorfismo de DNA amplificado ao acaso) envolvem uma técnica com grande potencial informativo e de custo relativamente baixo (Williams et al., 1990). Esse marcador tem sido empregado em estudos recentes de diversidade genética de algumas espécies nativas, gerando resultados que podem auxiliar no estudo da diversidade genética dessas espécies.

O estudo de diversidade de acessos de *Anacardium humile* A. St. Hill situados no Cerrado, por meio da caracterização morfológica e marcadores moleculares RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) visando obter informações sobre a diversidade genética, estrutura populacional, fluxo gênico e variabilidade da espécie são de suma importância na definição de programas para a conservação de populações evolutivamente estáveis bem como para auxiliar no manejo racional e sustentável dessas populações.

2. Revisão de literatura

2.1. O Cerrado brasileiro

O Cerrado brasileiro representa cerca de 20% do território nacional. O Estado de Goiás possui a maior área de solo inserida nesse bioma (quase 100%) seguido por Tocantins (87,05%), Minas Gerais (65,98%), PiauÍ (64,71%), Mato Grosso do Sul (61,75%) e Mato Grosso (47,91%), além do Distrito Federal (100%) (Yokoyama et al., 1998).

Uma característica marcante do Cerrado é sua diversidade florística, caracterizando-se como um mosaico de formações vegetais (Silva, 2001). Estas formações se dão principalmente pela relação intrínseca, com o nível do lençol freático, da fertilidade do solo, da geomorfologia do relevo e da topografia ou altitude do mesmo (Rigonato & Almeida, 2003).

Devido a esta diversidade o Cerrado é considerado um hotspot, ou seja, é um bioma de absoluta importância para a conservação por sua alta riqueza biológica e pela alta pressão antrópica a que vem sendo submetido (Myers et al., 2000). Com o avanço da agricultura, o Cerrado tornou-se uma fronteira agrícola, conseqüentemente houve uma fragmentação da paisagem, diminuição de espécies vegetais e animais e aumento de extinção de espécies consideradas endêmicas (Klink & Machado, 2005).

Muitas das espécies endêmicas, principalmente as espécies herbáceas e subarborescentes, por serem consideradas susceptíveis a ações antrópicas estão na lista de espécies com alto risco de extinção. Para preservar e conservar esta diversidade é preciso conhecer e investir em estudos de preservação, de técnicas agronômicas, estudo da diversidade genética e estrutura populacional.

Dentre as espécies nativas pouco estudadas que apresentam características que indicam potencial para uso sustentável pelos produtores locais e pela indústria e que se encaixa como espécie perene susceptível a extinção, é a espécie *Anacardium humile* A. St. Hil, da família Anacardiaceae.

2.2. Aspectos gerais do gênero *Anacardium*

2.2.1. Botânica, distribuição e principais características

A família Anacardiaceae é formada por 21 espécies do gênero *Anacardium* (Lima, 1988). O nome caju é oriundo da palavra indígena acaiu, que, em tupi, quer dizer noz que se produz. O caju, fruto do cajueiro, tem duas partes: o fruto propriamente dito, que é conhecida popularmente como castanha, e o pseudofruto, chamado tecnicamente pedúnculo floral, que é a parte vendida como fruta (Lima, 1988).

A origem brasileira do caju é aceita por quase todos os autores modernos que se dedicam ao seu estudo. Aceita-se também que pelo fato do Estado Nordeste concentrar cerca de 70 a 80 % das espécies do gênero, este seja o centro de origem do caju (Ferrão, 1992). Porém, é importante ressaltar que as teorias atuais sobre a origem do cajueiro continuam fundamentadas em provas circunstanciais.

Quanto ao seu comportamento ecológico, as espécies do gênero *Anacardium* que ocorrem no Brasil dividem-se em espécies de Cerrado e espécies da Amazônia. As espécies de Cerrado de modo geral, possuem porte baixo

(arbustiva) e as da mata, porte alto (arbóreas). Mesmo as espécies descritas fora do Brasil são de mata e, em consequência, de porte alto (Araújo, 1995).

Em Goiás, ocorrem principalmente três espécies de caju arbóreo e duas de herbáceo: a) *A. amilcarianum* O. March., nativa do Brasil Central, habitando a ilha do Bananal, arbusto de, aproximadamente, 5 metros de altura (Lima, 1988); b) *A. curatellifolium* St. Hil., espécie nativa do Planalto Central do Brasil, habitando, de preferência, solos lateríticos, apresenta troncos grossos, curtos e tortuosos (Rizzini, 1969); c) *A. humile* St. Hil., é um arbusto de tronco subterrâneo, abundante no Cerrado arenoso do Brasil Central, ocorrendo, ainda, em São Paulo e Minas Gerais (Ferreira, 1973); d) *A. nanum* ST. Hil., arbusto de caule tortuosa, rasteiro e subterrâneo, com dispersão pelo Distrito Federal, Goiás, Minas Gerais, até São Paulo (Ferreira, 1973); e) *A. othonianum* Rizz. é bastante conhecido e apreciado na região do Cerrado, é típica dos Cerrados do Planalto Central do Brasil, disperso pelo Distrito Federal e Goiás. A planta é aproveitada de várias formas: o chá obtido de suas folhas é empregado no combate a diarreia (Naves et al., 1992).

Do cajueiro tudo é aproveitado, entretanto é a amêndoa tostada do caju, o produto de grande interesse no mercado mundial, devido ao seu elevado valor nutritivo. Esta pode ser consumida *in natura*, ou usada no preparo de doces, farinhas, entre outras iguarias.

A espécie *Anacardium occidentale* (cajueiro-anão-precoce) é a única utilizada na industrialização, e devido a esta falta de conhecimento de outras espécies do gênero é difícil identificar propriedades desejáveis que pudessem ser empregados em programas de melhoramento genético, o que sugere estudos sobre outras espécies do gênero para fins de melhoramento (Crisostomo, 2002).

As populações de cajueiro apresentam um alto nível de heterogeneidade devido ao seu sistema reprodutivo ser predominantemente alogâmico. Contudo ainda não foi possível estabelecer variedades na espécie, sendo distinguidos apenas como tipo comum ou tipo anão precoce (Barros, 1995).

2.2.2. *Anacardium humile* A. St. Hill. (cajuzinho-do-cerrado)

O *Anacardium humile* A. St. Hill é conhecido como cajuí, cajuzinho-do-cerrado ou cajuzinho-do-campo. A espécie ocorre com frequência em campo sujo e Cerrado sentido restrito. É encontrado nos Estados de Bahia, Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e São Paulo (Almeida et al., 1998; Lorenzi, 2006).

Segundo López-Naranjo & Pernía (1975) o corpo aéreo de *A. humile* é formado por flores e folhas que afloram na superfície do solo e possuem comportamento ortotrópico e crescimento apical.

Quanto à morfologia, suas folhas são classificadas como coriáceas, alternas simples, comprimento entre 10 a 40 cm, pecíolos de 2 a 15 mm. Possuem venação pinada, com a nervura principal desenvolvida e saliente abaxial, nervuras laterais arqueadas e ramificadas próximas das margens. Quanto à filotaxia esta é espiralada e sua orientação tendendo à vertical. Possui forma de vida caméfito, ou seja, apresentam estruturas arbóreas com estruturas de vida subterrânea (Almeida et al., 1998; Lorenzi, 2006). Outra característica marcante é o fato da planta ser heliófila (Hoehne 1979).

O sistema radicular e caulinar, composto por ramos e troncos, forma o corpo subterrâneo ou hipógeno de *A. humile* (López- Naranjo, 1975). O tronco possui funções de grande importância para a planta, dentre estas o transporte de substâncias da raiz às folhas e armazenamento de água e amido que conferem resistência a seca e queimadas (Grando,2009).

O crescimento subterrâneo dos caules e ramos dificulta a separação das plantas de *A. humille* em campo. Esta distinção pode ser facilitada pela visualização da área da copa, porém, esta pode chegar a 200m², o que indica que há sobreposição de indivíduos (Galetti et. al., 2003; López- Naranjo, 1975).

Uma característica marcante da espécie é a presença de um xilopódio bem desenvolvido com capacidade de armazenar água, este garante resistência às secas prolongadas e queimadas, uma vez que após a perda da parte aérea, os

brotos plagiotrópicos reativam-se, invertendo a direção de crescimento, sendo esta diferenciação rápida e ocorrendo antes que os órgãos regenerativos das gramíneas e herbáceas cubram a superfície do solo (López- Naranjo & Pernía, 1990).

Suas flores foram classificadas em estaminadas (oito a dez estames, com antese diurna) e moclinhas (ovário súpero com um óvulo lateral), sendo que a inflorescência é de proporção de 4:1 em ambas (Almeida et al. 1998).

A espécie se propaga principalmente por sementes, porém, devido às limitações na polinização, como a incapacidade de algumas flores hermafroditas se transformarem em fruto, este possui baixa capacidade de produção de frutos e sementes, apesar do grande número de flores por inflorescência (Ferrão, 1995), associado à proporção de 4:1 entre flores masculinas e hermafroditas (Almeida et al., 1998). Outras razões podem ser a tendência de grãos de pólen dos estames permanecerem unidos á antera após a deiscência, e que, nas flores estaminadas somente um entre oito a dez estames é fértil (Ferrão, 1995),

Os órgãos reprodutivos da espécie possuem inflorescência terminal na forma de panícula. Suas flores são melíferas (Almeida et al. 1998) e seu principal polinizador é a abelha, sendo a *Apis melífera* a espécie mais comum (Lorenzi, 2006).

A floração e frutificação apresentam fases curtas, que coincidem com o final dos períodos secos do ano e início de períodos chuvosos. Os períodos de floração iniciam-se em julho (Lorenzi, 2006), e sua frutificação ocorre geralmente nos meses de outubro e novembro (Almeida et. al., 1998).

O fruto verdadeiro é uma núcula reniforme, com pericarpo duro e seco, de cor parda, alcançando o seu tamanho final antes mesmo do pedicelo se tornar espessado e modificado na forma de uma baga (Barroso et al. 1999). As núculas possuem uma das características mais marcantes da família Anacardiaceae, que são canais ou cavidades de goma-resina, bastante desenvolvidos e geralmente associados ao floema, ocupando quase todo o mesocarpo (Machado & Carmello-Guerreiro 2001).

As núculas de *Anacardium humile* não apresentam dormência e a sua viabilidade diminui após um mês de armazenamento (Almeida et al. 1998). De maneira geral, os diásporos do gênero *Anacardium* possuem baixa capacidade de germinação quando semeados sem qualquer pré-tratamento, isto ocorre devido sua semente possuir o embrião carnosos e curvo, não possuindo endosperma (Lorenzi, 1998), embora existam registros de percentagem de germinação superior a 60% para núculas de *A. humile*, em um período de 20 dias (Melo et al., 1998).

O cajueiro necessita de uma estação seca para frutificar. Em regiões com precipitações intensas e bem distribuídas durante todo o ano à frutificação fica muito comprometida pela ocorrência de pragas e doenças (Frota, 1988).

A faixa situada em torno de 27°C é tida como ideal para o desenvolvimento e frutificação da planta que suporta temperaturas acima de 30° C e até 35°C. A espécie é sensível a temperaturas abaixo de 22°C por períodos longos, prejudicando o desenvolvimento principalmente das plantas jovens. As plantas adultas suportam temperaturas baixas por um curto período de tempo, porém sua produção é prejudicada nos períodos de floração e frutificação. Frota (1988) relata que a floração tende a se tornar gradativamente mais tardia, à medida que as regiões de cultivo se afastam da linha do equador, ou que se localizam em regiões mais elevadas (Aguiar & Costa, 2002).

A espécie é fonte alimentar de canídeos silvestres neotropicais, como a raposa-do-campo (*Lycalopex vetulus*) e o lobo-guará (*Chrysocyum brachiaru*) que são considerados recolonizadores de áreas abertas por atividade humana, atuando como agente dispersor em áreas mais secas do Cerrado (Dalponte & Lima 1999).

Apresenta potencial medicinal e alimentar, podendo ser enquadrada no grupo das fruteiras tropicais. O falso fruto e os frutos são valorizados pelas populações locais como fonte alimentar (Corrêa 1984, Almeida et al., 1998). O óleo encontrado na castanha é corrosivo e volátil, contendo cardol e ácido anacárdico, considerados de uso medicinal, com ação antisséptica e cicatrizante (Barroso et al., 1999).

2.3. Variabilidade genética e fluxo gênico

O estudo da variabilidade genética tem papel fundamental na definição das estratégias de conservação de espécies nativas (Avice & Hamrick, 1996). A perda da variabilidade genética de uma espécie tornou-se um ponto chave para estudos de conservação, principalmente quando relacionada a espécies alógamas encontradas em áreas fragmentadas e em pequenas populações (Avice, 1994),

O conhecimento do comportamento e distribuição da variabilidade genética dentro e entre populações é importante, estando relacionado diretamente com o alcance do fluxo gênico, gerando informações importantes na definição de programas para a conservação de populações evolutivamente estáveis bem como para auxiliar no manejo racional e sustentável dessas populações (Newton et al., 1999).

O termo fluxo gênico possui várias definições na literatura porem neste contexto é definido como o movimento de genes em populações que efetivamente trocam genes na distribuição espacial (Neigel, 1997), sendo de grande importância para a manutenção da diversidade genética e do polimorfismo. Em plantas a transferência de genes pode ocorrer tanto pelo movimento de organismos individuais (sementes, rizomas, estolões) assim como o movimento de gametas (Zucchi, 2002).

Segundo Futuyma (1992) existem quatro modelos básicos de fluxo gênico: a) o modelo continente-ilha, em que o movimento dos genes é unidirecional, partindo de uma população maior para outra menor e isolada ou, para colonização; b) o modelo de ilhas, onde a migração ocorre ao acaso entre um grupo de pequenas populações bem definidas; c) o modelo de alpondras ou “stepping-stone”, onde as populações trocam migrantes entre populações vizinhas e d) o modelo de isolamento por distância, no qual o fluxo ocorre entre grupos vizinhos, em uma população contínua.

Zucchi (2002) em seus estudos com *Eugenia dysenterica* considerou o modelo de ilha de Swall Wright, onde a migração ocorre ao acaso entre grupos de

pequenas populações. Neste modelo, o número efetivo de migrantes, N_m , é estimado através da estatística F para um conjunto n de populações, considerando equilíbrio entre migração e deriva entre todas as populações. Este mesmo comportamento espera-se do cajuzinho-do-cerrado devido este ser encontrado em fragmentos de Cerrado.

2.4. O uso de marcadores moleculares RAPD no melhoramento genético de plantas

O melhoramento genético tem influenciado de forma positiva e decisiva na adaptabilidade e produtividade dos cultivos, porém para a eficiente obtenção de ganhos genéticos no melhoramento é imprescindível um conhecimento detalhado da constituição genética da espécie (Bered et al., 1997).

Conhecer a quantidade de variação genética presente na espécie é importante para se obter resultados positivos e confiáveis para um programa de melhoramento, manejo ou conservação. Estas informações podem ser obtidas através de marcadores genéticos.

Os primeiros marcadores genéticos utilizados foram os morfológicos que são determinados por mutações simples em um gene particular que geram alterações fenotípicas de fácil identificação. O uso desses marcadores ficou bastante limitado devido estes sofrerem influência ambiental (Carvalho & Torres, 2002; Ferreira & Grattapaglia, 1998) para isto foram desenvolvidos outras tecnologias a fim de ajudar na detecção de variabilidade das espécies.

Diversas ferramentas da biologia molecular estão disponíveis para a detecção de variabilidade genética em sequência de DNA, ou seja, para a detecção de polimorfismo genético. Estas técnicas permitem a obtenção de um número virtualmente ilimitado de marcadores moleculares que cobrem todo o genoma do organismo. Tais marcadores podem ser usados para diversos fins, tanto para estudo de genética como na prática de melhoramento de plantas, onde este caracteriza o genótipo a partir de amostras celulares ou teciduais, em

qualquer estágio de desenvolvimento planta, desde que se tenha uma quantidade suficiente de DNA (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

A possibilidade de identificar e selecionar os clones mais adaptados possibilita que se tenham características qualitativas e quantitativas à fim de selecionar genes de interesse que favoreçam a exploração econômica nos diferentes agroecossistemas (Cavalcanti, 2005).

Ao identificar os genes que garantem essas características, pode-se selecionar através de amostras de marcadores moleculares os indivíduos que possuem as características desejadas. Isso poderá ser feito em um espaço de tempo menor do que se o estudo fosse feito em campo através de observações do fenótipo. Outra vantagem é a redução da área para a realização do experimento, conseqüentemente a redução dos custos nas pesquisas (Cavalcanti, 2005).

Os marcadores moleculares diferenciam dois ou mais indivíduos e têm base mendeliana. São moléculas como DNA ou proteínas que marcam uma região ou regiões do genoma ligadas a alguma característica de interesse agrônômico (Weising et al., 1995).

Entre os vários tipos de marcadores moleculares disponíveis, destacam-se os de maior utilização, como *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Simple Sequence Repeats*- ISSR- (Microssatélites ou SSR) e *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP).

O uso de uma ou outra tecnologia vai depender de fatores como: o objetivo do estudo, da espécie, da infra-estrutura disponível, dos recursos financeiros e humanos.

A técnica RAPD foi descrita, independentemente por dois grupos de pesquisadores que a denominaram, respectivamente, de *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) e *Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction* (AP-PCR). O RAPD é a denominação mais utilizada, no qual envolve a amplificação simultânea de vários locos anônimos do genoma, utilizando-se um único *primer* (oligonucleotídeo iniciador) de seqüência arbitrária para realizar a amplificação. É

basicamente uma variação da técnica usada em PCR (Welsh & McClelland, 1990; Williams et al., 1990).

Segundo Caixeta et al (2006), a partir da técnica de RAPD, pode-se amplificar segmentos de DNA distribuídos ao acaso no genoma sem a necessidade do conhecimento prévio da sequência do DNA.

O princípio da técnica é muito simples: o *primer* se liga às seqüências complementares em fitas opostas do DNA alvo e ocorre a amplificação *in vitro* do segmento de DNA entre dois *primers* adjacentes com o auxílio da enzima *Taq* polimerase. Segundo Ferreira & Grattapaglia, (1995), os sítios de ligação dos *primers* devem estar separados por no máximo 3 a 4 mil pares de bases, uma vez que a *Taq* polimerase não é capaz de percorrer segmentos maiores nas condições normalmente usadas durante a amplificação (Williams et al., 1990). A quantidade de fragmentos a serem produzidos para uma análise é virtualmente ilimitada, dependendo apenas do número de *primers* utilizados (Lacerda, 2002).

A detecção dos produtos de amplificação é feita, normalmente, em géis de agarose, separados por eletroforese em meio semi sólido, corado com brometo de etídio e visualizado sob luz ultravioleta (Caixeta et al., 2006; Ferreira & Grattapaglia, 1998).

O polimorfismo detectado por estes marcadores tem natureza binária, ou seja, um determinado fragmento ou banda está presente ou ausente no gel. Quando presente esta é chamada de 1 e quando ausente é chamada de 0. As bandas que apresentam tamanhos diferentes são consideradas locos diferentes (Ferreira & Grattapaglia, 1995).

Entre as vantagens frequentemente citadas para a técnica de RAPD, pode-se destacar: simplicidade, rapidez, baixo custo, infraestrutura mais simples, pouca quantidade de DNA para realização das análises, possibilidade de estudo de espécies sobre as quais não se tem nenhum tipo de informação genética e espécies com pouco ou nenhum polimorfismo em locos isoenzimáticos (Lacerda, 2002).

Na literatura é possível achar diversos trabalhos utilizando a técnica de RAPD em análises genéticas de plantas nativas com diferentes finalidades, seja para determinação da diversidade e da estrutura genética em populações naturais, seja visando não apenas à caracterização, como também a conservação destas espécies. Entre estes estudos pode-se destacar o maracujazeiro doce (Bellon et. al., 2009); butiazeiro (Nunes et. al., 2008), a aceroleira (Salla et.al. 2002), bananeira (Souza, 2006), açazeiro (Oliveira et. al., 2007), guariroba (Pinto, 2008) e pitayas (Junqueira et. al., 2010), gerando resultados que podem auxiliar no estudo da diversidade genética dessas espécies.

Para auxiliar nestes estudos foram desenvolvidas diversas ferramentas para análises moleculares, entre estas temos a análise molecular de variância (AMOVA) que foi desenvolvida por Excoffier et al., (1992) originalmente para aplicação em sistemas haplóides (mtDNA) constituídos de um único grupo de ligação. Em 1996 foi adaptada por Stewart & Excoffier para analisar dados de RAPD (Pessoni, 2007).

3. OBJETIVOS

Em função do registro ainda pouco expressivo de estudos com espécies frutíferas do Bioma Cerrado, este trabalho buscou obter informações que ajudem na preservação e conhecimento genético da espécie nativa conhecida por cajuzinho-do-cerrado (*Anacardium humile* A. St. Hill). Os objetivos deste trabalho foram:

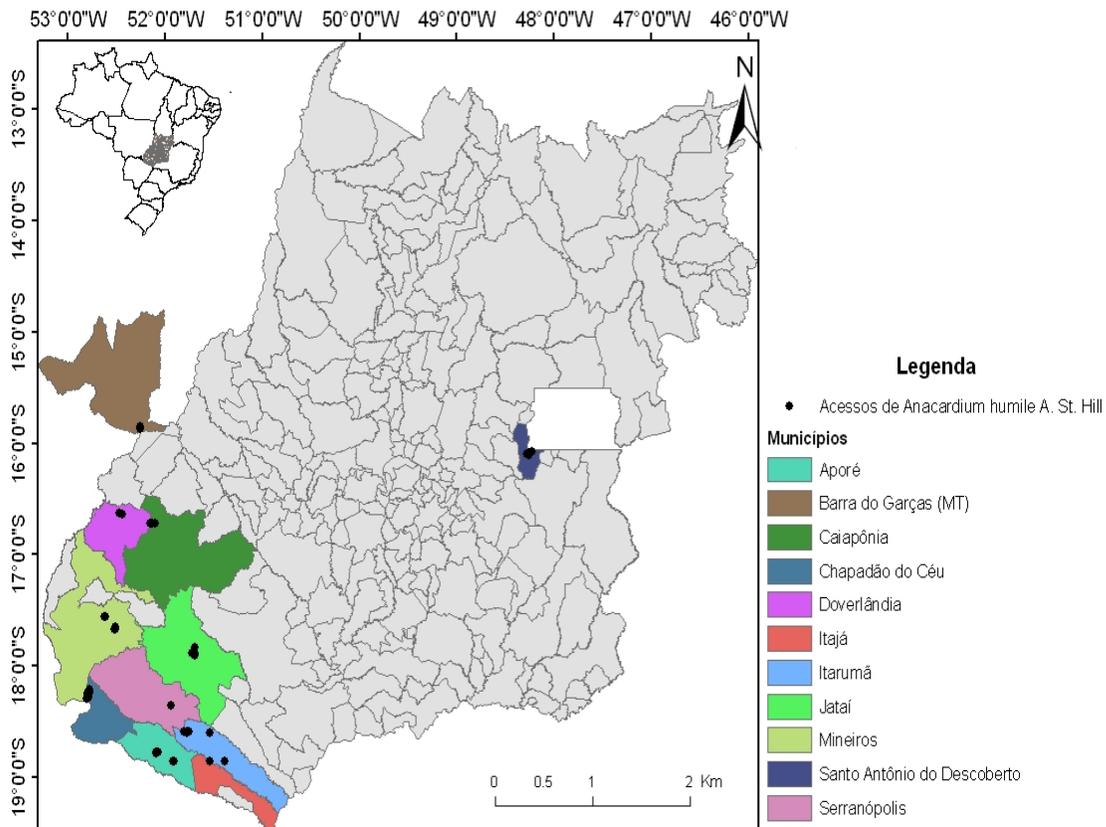
- Avaliar descritores morfológicos em plantas de *Anacardium humile* A. St. Hill provenientes de 10 municípios do estado de Goiás e 1 município do estado de Mato Grosso;
- Caracterizar geneticamente 122 acessos de *Anacardium humile* A. St. Hill oriundos de 11 municípios situados no Cerrado, por meio de marcadores moleculares RAPD, visando obter informações sobre a diversidade genética da espécie;
- Avaliar a variabilidade genética da espécie, em diferentes localidades do Cerrado.

4. MATERIAL E MÉTODOS

As coletas dos dados morfológicos e moleculares foram feitas em 122 acessos, distribuídos em 11 procedências, sendo 10 do estado de Goiás-GO e 1 procedência do estado do MT (Tabela 1 e Figura 1).

Tabela 1. Procedências dos 122 acessos de cajuzinho-do-cerrado.

Procedência	Coordenadas geográficas	Acessos
Mineiros-GO	Altitude: 704m S: 17. 0,66. 0,130 W: 52. 0,5. 0,271	01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09 e 10;
Doverlândia-GO	Altitude: 618m S: 16.0,71.0,09 W: 52. 0,15.0,0125	26, 27, 28, 29,30, 31,32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 e 40;
Itarumã-GO	Altitude: 637m S: 18. 0,6. 0,0272 W: 51. 0,76. 0,093	41,42, 43, 44, 45,46, 47, 49 e 50;
Itajá-GO	Altitude: 484m S: 18. 0,85. 0,225 W: 51. 0,53. 0,228	51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58 e 59;
Chapadão do Céu-GO	Altitude: 809m S: 18.0,216. 0,112 W: 52. 0,86.0,165	60, 61, 62, 63,64, 65, 66, 67,68,69 e 70;
Aporé-GO	Altitude: 681m S: 18. 0,783. 0,147 W: 52. 0,08. 0,182	71,72, 73, 74, 75,76, 77, 78 e 79;
Serranópolis-GO	Altitude: 577m S: 18. 0,35. 0,147 W: 52. 0,93. 0,075	80, 81, 81b, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89;
Jataí-GO	Altitude:750m S: 17. 0,90. 0,0163 W: 51. 0,68. 0,256	91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 e 100;
Caiapônia-GO	Altitude: 599m S: 16. 0,7. 0,0165 W: 52. 0,11. 0,0066	101, 102, 103, 104, 105, 107, 108, 109 e 110;
Santo Antônio do Descoberto-GO	Altitude: 1050m S: 15. 0,98. 0,00438 W: 48. 0,21.0,0150	111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123 e 124.
Barra do Garça-MT	Altitude: 570m S: 15. 0,85. 0,072 W: 52. 0,25. 0,048	11,12, 13,14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 e 25;



Fonte: Sistema Estadual de Estatísticas e Informações Geográficas de Goiás (SIEG, 2010).
Organização: Laboratório de Geoinformação - UFG/Jataí

Figura 1. Área territorial das procedências avaliadas e os pontos de coleta dos acessos de cajuzinho-do-cerrado.

Todas as plantas em estudo foram georreferenciadas quanto as Coordenadas Geográficas: Altitude, Latitude Sul e Longitude Oeste.

4.1. Caracterização morfológica

Na coleta dos acessos pôde-se verificar a grande ocorrência de Antracnose, que pode ter contribuído para a baixa frutificação. Foram avaliados oito descritores nas áreas de coleta (Tabela 2).

Tabela 2. Descritores utilizados na caracterização do cajuzinho-do-cerrado.

Descritores	Descrição	
AP	Altura da Planta (cm)	Medida do nível do solo à inserção da gema apical;
DC	Diâmetro da Copa (cm)	Medida no ponto mais largo da copa;
AC	Altura do caule –(Comprimento da Haste cm)	Altura da primeira bifurcação;
DH	Diâmetro da haste (cm)	Medida da parte média da haste abaixo da primeira bifurcação;
NR	Número de Ramificação	Número de ramos laterais;
CFM	Comprimento da Folha Madura (cm)	Médias da medida de dez folhas totalmente desenvolvidas;
LFM	Largura da Folha Madura (parte mais larga da folha cm)	Média da medida de dez folhas totalmente desenvolvidas;
D	Presença de lesões provocadas por patógenos (antracnose)	0= ausência de lesões; 1= pouca presença de lesões; 2= média presença de lesões e 3= expressiva presença de lesões.

4.1.1 Análise estatística dos dados morfológicos

Para a quantificação da divergência realizou-se análises multivariadas, estimando a distância Euclidiana média, obtida a partir das médias dos acessos avaliados nas diferentes procedências para todos os descritores morfológicos (2006). A medida de similaridade genética e agrupamento das procedências foram estimados pelo algoritmo de otimização de Tocher. Para tanto, utilizou-se também o Programa Statistica (Statsoft in 1999) para a confecção da dispersão gráfica em escalas multidimensionais. A contribuição relativa das variáveis foi avaliada pelo método de Singh (1981) com o auxílio do Programa Genes.

Foi utilizada para análise de divergência a análise por componentes principais, quando os dados são obtidos de experimentos sem repetições.

4.2. Caracterização dos solos

Para a análise do solo, foram coletadas amostras na profundidade de 10-20 cm em 8 pontos de coleta próximo aos acessos de cada procedência e em seguida obtidas as amostras compostas, seguindo o mesmo padrão em todos os 11 procedências. As amostras foram acondicionadas em sacos de papel devidamente identificadas e levadas ao laboratório de Solos da Universidade Federal de Goiás- Campus Jataí-GO, onde foram feitas as análises físicas e químicas dos solos a fim de conhecer qual o tipo de solo que a espécie se adapta.

4.3. Material vegetal

Foram coletadas amostras de folhas em estado intermediário de maturação de 122 acessos procedentes de dez municípios dos Estados de Goiás e um município de Mato Grosso (Tabela 1). As folhas foram acondicionadas em tubos falcon (identificados) contendo sílica e transportadas para o laboratório de Genética e Biologia Molecular da UFG – Campus Jataí, e armazenadas em freezer (-20°C) para melhor conservação.

4.3.1. Otimização do protocolo de extração de DNA do cajuzinho-do-cerrado

O DNA genômico foi extraído utilizando-se o protocolo de Faleiro et al. (2003), com modificações na concentração de betamercaptanol onde foram utilizadas 10 vezes mais, ou seja 20ml por amostra, e o tempo de imersão em banho Maria foi reduzido em uma hora. Após a extração, o DNA total de cada uma das plantas foi quantificado por espectrofotometria. Em seguida a solução estoque do DNA foi diluída para a concentração final de trabalho de aproximadamente 5ng μL^{-1} .

4.3.2. Amplificação e obtenção dos dados moleculares

As reações de amplificação foram realizadas conforme a metodologia de Barros et. al., (2005), onde foram utilizados 25 iniciadores decâmeros: OPA (01, 04, 05, 08, 09, 11, 18, 19 e 20,); OPB (02, 03, 04, 05, 06, 07, 08 e 14); OPJ (05 e 19); OPM (02 e 03); OPN (02 e 05) e; OPW (01e 05).

As amplificações foram feitas em termociclador programado de acordo com Barros et. al., (2005), para 40 ciclos, sendo cada um, constituído pela seguinte seqüência: 15 segundos a 94°C, 30 segundos a 35°C e 90 segundos a 72°C. Após o término dos 40 ciclos, foi realizada uma etapa de extensão de seis minutos a 72°C e redução para 4°C. Após a reação de PCR, foi adicionado, a cada amostra, 3 µL da mistura de azul de bromofenol (0,25% p/v), glicerol (60% v/v) em água (com o intuito de auxiliar a visualização do andamento da corrida do DNA na eletroforese). O volume total de cada amostra foi aplicado em gel de agarose (1,2%), corado com brometo de etídio, submerso em tampão TBE (Tris-Borato 90 mM, EDTA 1 Mm, e brometo de etídio). A separação eletroforética foi realizada durante 3 horas, a 90 volts. Ao término de cada eletroforese, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta. Foi utilizado como padrão de peso molecular 1Kb Ladder DNA Marker da Real Biotech Corporation, que varia de 500 a 10000 bp.

4.3.3. Análise estatística dos dados moleculares

Após a leitura dos géis foi gerada uma matriz binária. As distâncias genéticas entre os acessos foram obtidos com base no coeficiente de similaridade descrito por Nei & Li (1979) utilizando o programa computacional Genes (Cruz, 1997).

Os marcadores RAPD obtidos foram convertidos em uma matriz de dados binários para estimar as matrizes de dissimilaridade genética entres os municípios, acessos dentro dos municípios e entre todos os acessos, com base no complemento do coeficiente de Nei & Li, pelo programa Genes (Cruz, 1997). A matriz de dissimilaridade genética foi utilizada para a análise de diversidade

genética por meio de dendrograma e dispersão gráfica baseada nas coordenadas principais. Utilizou-se como critério de agrupamento dos acessos o método UPGMA (Critério de agrupamento baseado na média aritmética), com o auxílio do sistema SAS (SAS Institute, 1990).

4.3.3.1. Porcentagem de polimorfismo

Com a matriz de dados binários foi calculado a porcentagem de polimorfismo obtido com cada *primer*, utilizando a seguinte expressão:

$$P = nbp / nbt$$

Onde:

P = porcentagem de polimorfismo (ou taxa de polimorfismo);

nbp = número de bandas polimórficas;

nbt = número de bandas totais.

4.3.3.2. Análise de agrupamento

A análise de agrupamento teve como objetivo agrupar os diversos acessos para visualizar e interpretar a diversidade existente entre eles através do uso de medidas de dissimilaridade UPGMA (*Unweighted pair-group arithmetic average*) (Cruz & Carneiro, 2003).

4.3.3.3. Coeficiente de similaridade e dissimilaridade

A partir da matriz de dados binários utilizando-se o programa Genes (Cruz, 2006), foram estimadas as distâncias genéticas entre os diferentes acessos, por meio do coeficiente de similaridade Nei & Li (1979), conforme a expressão abaixo:

$$S_{ij} = 2a / (2a + b + c)$$

Onde:

a = número de casos em que ocorre a presença da banda em ambos os indivíduos, simultaneamente;

b = número de casos em que ocorre a presença da banda somente no indivíduo *i*;

c = número de casos em que ocorre a presença da banda somente no indivíduo *j*;

As similaridades foram transformadas em médias de distância genética (D_{ij}) pela seguinte equação:

$$D_{ij} = 1 - S_{ij}$$

A partir da distância de 1 menos a medida de similaridade foi confeccionada a matriz de dissimilaridade, a qual foi utilizada para construir um dendrograma, através do método hierárquico aglomerativo da média aritmética entre pares não ponderados (UPGMA – *Unweighted pair-group arithmetic Average*), que permite a construção de um dendrograma, utilizando-se o programa Statistica (Statsoft in 1999)

4.3.3.4. Bootstrap (Número mínimo de bandas)

Foi utilizado o procedimento bootstrap por permutação para estimar o coeficiente de variação (CV) do índice de similaridade de Nei & Li, gerando 1000 simulações de ordem aleatória, de acordo com o procedimento descrito por Tivang et. al (1994). O software utilizado foi o Dboot, desenvolvido por Coelho (2000).

Os coeficientes de variação obtidos foram relacionados com o número de locos. O ponto de curvatura máximo da função ajustada foi determinado quando o coeficiente de variação alcançasse 10%.

4.3.3.5. AMOVA (Análise Molecular de Variância)

A AMOVA (Tabela 3) tem como finalidade delinear a extensão da diferença genética entre e dentro de populações, utilizando componentes de variância. Deve-se ter cautela para interpretação dos dados (Pessoni, 2007).

A matriz de distância foi obtida pelo método da distância de Nei e Li. A significância dos componentes de variância das estatísticas ϕ são testadas pela análise de permutação (Excoffier et al., 1992). O método parte de uma matriz com os quadrados das distâncias entre todos os pares haplótipos, neste caso, a combinação de marcadores moleculares presentes em alguma área definida do genoma. Assim, o haplótipo de um indivíduo é representado por um vetor p, com valores 0 se a banda homóloga tiver ausente e 1 se esta estiver presente (Excoffier et al., 1992).

Tabela 3. Esquema da Análise de Variância Molecular (AMOVA), para o caso de um grupo de populações independentes.

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	E(QM)	Componentes de variância
Entre populações	P-1	SQa	QMa	$\sigma_b^2 + n\sigma_a^2$	$\sigma_T^2 = \sigma_a^2 + \sigma_b^2$
Dentro de Populações	N-P	SQb	QMb	σ_b^2	$\phi_{ST} = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_T^2}$
Total	N-1	-	-	-	-

$$n = \frac{N - \sum_P \frac{N_p^2}{N}}{P - 1}$$

Onde:

P: é número de populações;

N: é número total de indivíduos ou acessos;

N_p: é o número de indivíduos ou acessos na população P.

Neste trabalho a AMOVA foi realizada com 122 acessos oriundos de 11 municípios. As análises foram realizadas com o auxílio do programa POPGENE

(Young et al., 2000). As distâncias genéticas foram calculadas conforme Nei & Li (1979):

$$D = \left\{ \mathcal{D}_{xy}^2 \right\} = 100 \left[1 - \frac{2n_{xy}}{n_x + n_y} \right]$$

4.3.3.6. Caracterização da variabilidade

- Diversidade de Nei (1973) (\hat{H}_2)

$$\hat{F}_{IT} = 1 - \frac{\hat{H}_{ot}}{\hat{H}_{et}}; \quad \hat{F}_{IS} = 1 - \frac{\hat{H}_{ot}}{\hat{H}_{ei}} \quad \hat{F}_{ST} = 1 - \frac{\hat{H}_{ei}}{\hat{H}_{et}}$$

onde:

$$\hat{H}_{ot} = \frac{\sum \sum \hat{x}_{il}}{ls} \quad \hat{H}_{ei} = 1 - \frac{\sum \sum \hat{x}_{ilk}^2}{ls} \quad \hat{H}_{et} = 1 - \frac{\sum \left(\frac{\sum \hat{x}_{ilk}}{s} \right)^2}{l}$$

Sendo:

\hat{H}_{et} = heterozigosidade esperada total;

\hat{H}_{ot} = heterozigosidade observada total;

\hat{H}_{ei} = heterozigosidade esperada média total;

x_{il} = frequência de heterozigotos do loco l na população i;

x_{ilk} = frequência do alelo k do loco l na população i;

s = número de populações;

l = locos.

4.3.3.7. Índice de Shannon

O índice de Shannon, também chamado de índice de Shannon-Weaver ou índice de Shannon-Wiener, é um dos vários índices de diversidade usados para medir a diversidade em dados categóricos. Trata-se da informação entrópica da distribuição, tratando espécies como símbolos e o tamanho da respectiva

população como uma probabilidade. A vantagem desta medida de heterogeneidade é que ela leva em consideração o número das espécies e sua equitabilidade (Santos, 2009).

O índice de Shannon é definido por

$$H' = - \sum_{j=1}^s p_j \log(p_j),$$

Sendo:

H'=Índice de Shannon;

S: espécies;

P_j: a proporção de indivíduos na j-ésima espécie (j = 1, ..., s).

4.3.3.8. Método de estimação do fluxo gênico

Foi calculado através do parâmetro F_{ST} chamado de fluxo gênico aparente, pois este admite a estrutura genética populacional sob o modelo de ilhas de Wright (1951) e assume equilíbrio entre migração e deriva genética. O F_{ST} é uma função efetiva do número de migrantes por geração (Nm) onde N é o tamanho populacional e m é a proporção de migrantes por geração, onde se tem a seguinte fórmula de Wright 1951:

$$Nm = \frac{1}{4} \left(\frac{1}{F_{ST}} - 1 \right)$$

Onde:

m = taxa de migração;

N = tamanho populacional;

Nm = número de migrantes/ geração.

Segundo Wright (1951), quando $Nm \geq 1,0$, ou seja, quando um ou mais indivíduos migram por geração, os efeitos da migração são suficientes para contrapor os efeitos da deriva e, portanto, o número de migrantes por geração impede a divergência entre populações.

Contudo deve-se tomar certo cuidado na interpretação desta estimativa, quando estimada a partir de F_{ST} , devido o fluxo não ser uma medida contemporânea (Zucchi, 2002).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análises Morfológicas

Pela matriz de correção entre os acessos, calcularam-se os componentes principais, promovendo integrar as múltiplas informações extraídas e identificar quais descritores melhor caracterizam os materiais estudados.

Com base nos caracteres para divergência segundo Singh (1981), observados na Tabela 4 pode-se verificar a contribuição relativa das 8 variáveis em relação a caracterização da variabilidade da espécie. As variáveis diâmetro da copa, altura da planta e altura do caule apresentaram respectivamente 29,128%, 53,390 %, e 15,803 % de contribuição relativa para a variação total, desta forma, pode-se afirmar que estes descritores são importantes na caracterização dos acessos de cajuzinho-do-cerrado por apresentarem contribuições importantes na discriminação da divergência. As variáveis média de comprimento da folha madura e presença de lesões foram as variáveis que menos contribuíram para a discriminação da variabilidade da espécie, com porcentagens de 0,023 % e 0,038%, respectivamente, indicando serem estes descritores pouco discriminantes da variabilidade genética.

Tabela 4. Contribuição relativa dos caracteres para divergência segundo Singh (1981)

Variável	S.j	C%
AP	16236065.0	29,128
DC	29759777.0	53,390
AC	8808937.0	15,803

DH	265355.1249	0,476
NR	435588.0	0,781
CFM	13005.0	0,023
LFM	199455.9701	0,357
D	21470.1148	0,038

*AP= altura da planta; DC=diâmetro da copa; AC= altura do caule; DH=diâmetro da haste; NR= Número de Ramificações; CFM= Comprimento Folha Madura; LFM= Largura Folha Madura; D= presença de lesões provocadas por patógenos; S.j =; C%= Contribuição relativa para divergência Genética.

As distâncias genéticas entre os 122 acessos de cajuzinho-do-cerrado variaram entre 0,4595 e 2,2174. A maior distância foi obtida entre os acessos 01 e 04 (Aporé-GO e Chapadão do Céu-GO, respectivamente) e a menor foi entre os acessos 1 e 3 (Aporé-GO e Caiapônia-GO, respectivamente), sugerindo a influência geográfica na divergência fenotípica (Tabela 5 e Figura 2).

A partir da análise de agrupamento pelo método de Tocher, foi possível separar os 11 municípios em 5 grupos (Tabela 5), sendo o primeiro composto por dois municípios, o segundo por três, o terceiro e o quarto por dois e o quinto e sexto por apenas um município. Os 122 acessos foram separados em 7 grupos a partir do método de Tocher (Tabela 6). Grupos formados por apenas um indivíduo apontam na direção de que tais indivíduos sejam mais divergentes em relação aos demais (Vieira et al., 2005).

A análise de agrupamento dos 122 acessos gerou a formação de 7 grupos, sendo o primeiro formado por 109 indivíduos de diferentes municípios, o segundo e o quarto grupo por dois indivíduos, o terceiro grupo por seis indivíduos e o quinto, sexto e sétimo grupo foi formado por apenas um indivíduo.

Tabela 5. Agrupamento de 11 amostras, originadas de diferentes municípios, de plantas de cajuzinho-do-cerrado com base no método de agrupamento de Tocher, para oito descritores avaliados.

GRUPO	INDIVÍDUOS*
I	1 3
II	5 7 10

III	2 11
IV	6 9
V	8
VI	4

*1-Aporé-GO, 2-Barra do Garça-MT, 3-Caiapônia-GO, 4-Chapadão do Céu-GO, 5-Santo Antônio do Descoberto-GO, 6-Doverlândia-GO, 7-Itarumã-GO, 8-Itajá-GO, 9-Jataí-GO, 10-Mineiros-GO e 11-Serranópolis-GO.

Tabela 6. Agrupamento dos 122 acessos de diferentes municípios, de plantas de cajuzinho-do-cerrado, com base no método de agrupamento de Tocher para oito descritores avaliados.

Grupo	Indivíduos/Acessos																	
I	69	97	100	73	98	35	61	62	95	99	70	65	40	28	4	80	36	39
	8	105	34	118	92	104	52	1	2	124	91	53	31	90	30	123	117	
	79	33	6	106	112	120	48	89	75	81	67	54	77	111	9	93	26	94
	47	51	38	13	10	113	115	82	18	44	71	55	21	19	27	7	32	43
	78	116	103	84	58	15	56	109	49	83	122	29	68	121	63	96		
	102	3	5	17	107	86	64	110	12									
		16	76	46	45	119	22	59	114	41	24	14	74	23	60	108		
II									37	66								
III							20	57	25	88	87	50						
IV									42	72								
V										85								
VI											101							
VII												11						

Na análise de dispersão demonstrada na Figura 2 é possível verificar a divergência entre os 11 municípios e o agrupamento dos acessos dos municípios Aporé-GO, Caiapônia-GO e Santo Antônio do Descoberto-GO e Itarumã-GO e Mineiros-GO.

Os acessos foram analisados pelos componentes principais, e na Figura 3 é possível ver claramente a grande diversidade existente entre os 122 acessos de cajuzinho-do-cerrado.

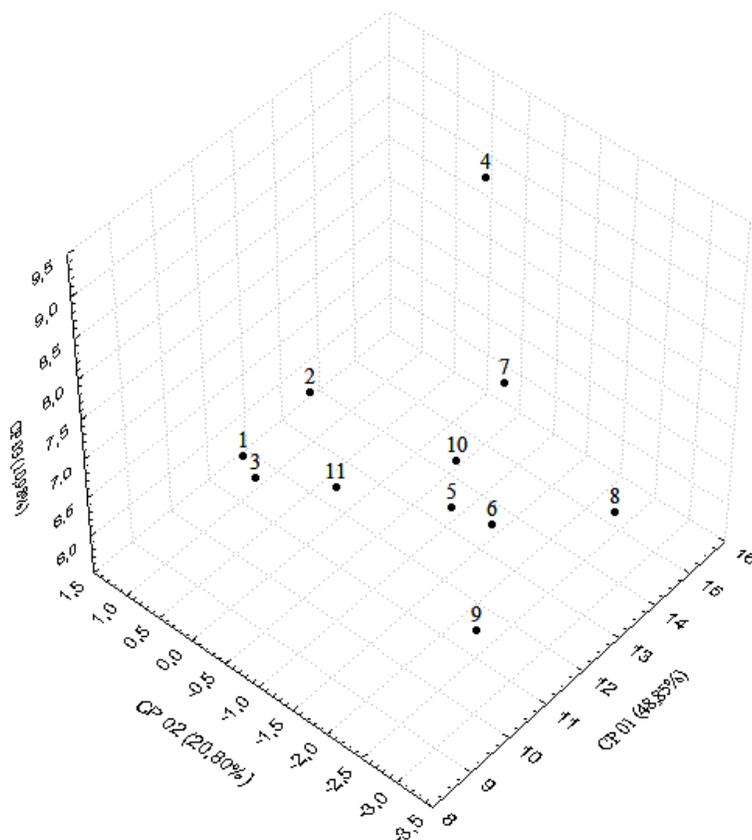


Figura 2. Dispersão gráfica em três Dimensões (3D) mostrando o agrupamento das 11 procedências a partir da análise de 8 descritores morfológicos (1-Aporé-GO, 2-Barra do Garça-MT, 3-Caiapônia-GO, 4-Chapadão do Céu-GO, 5-Santo Antônio do Descoberto-GO, 6-Doverlândia-GO, 7-Itarumã-GO, 8-Itajá-GO, 9-Jataí-GO, 10-Mineiros-GO e 11-Serranópolis-GO).

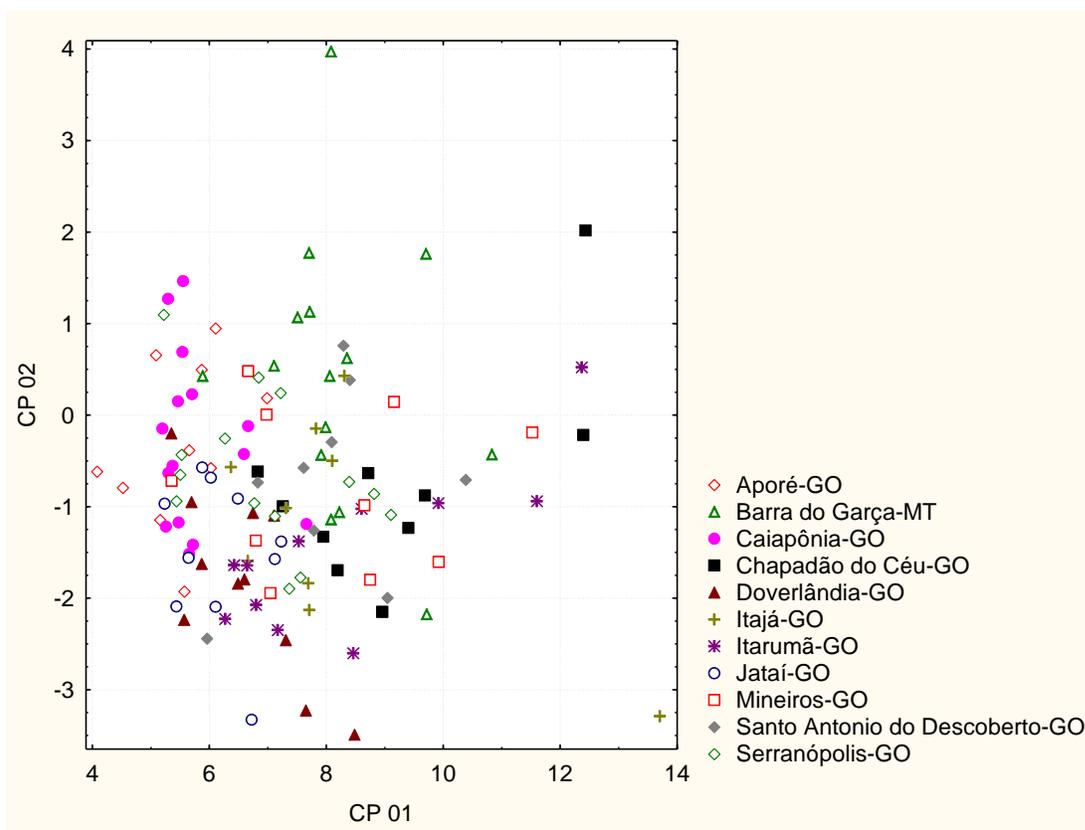


Figura 3. Dispersão gráfica em duas dimensões (2d) mostrando o agrupamento dos 122 acessos a partir da análise de 8 descritores morfológicos.

5.2. Análises do Solo

Na Tabela 7, são apresentados as análise dos solos provenientes dos 11 municípios onde se avaliaram os acessos de cajuzinho-do-cerrado. Observou-se que todos os solos são classificados como distróficos. A maioria foram classificados como álicos, e somente os solos coletados em Itajá-GO, Aporé-GO e Jataí-GO apresentaram-se não álicos. Quanto à porcentagem de argila, somente o solo de Jataí-GO apresenta-se argiloso, sendo os demais caracterizados como médios a arenosos. Para a matéria orgânica, os valores só foram médios para Chapadão do Céu-GO e Jataí-GO, e os demais solos apresentaram valores baixos a muito baixos.

A acidez dos solos coletados nos 11 municípios apresentou-se de elevada a muito elevada, com exceção dos municípios de Itajá-GO, Aporé-GO e Santo Antônio do Descoberto-GO.

Tabela 7. Análise física e química dos solos coletados nos 11 municípios de coleta de cajuzinho-do-cerrado.

Procedências	pH	Al	SB	CTC	M	% MOS	Textura %		
							Argila	Silte	Areias
Mineiros-GO	4,73	29,72	0,519	3,269	65,61	0,8	6,91	3,43	89,66
Barra do Garça-MT	4,83	18,08	0,596	4,82	59,35	1,3	12,75	11,23	76,03
Itajá- GO	5,18	16,88	0,643	3,033	44,71	0,9	13,36	4,98	81,67
Doverlândia-GO	4,42	23,94	0,442	5,522	73,41	1,6	25,97	14,05	59,98
Aporé-GO	5,15	15,13	0,517	2,237	40,37	0,5	7,05	3,38	89,57
Serranópolis-GO	4,80	18,71	0,427	3,117	57,60	0,7	4,44	4,29	91,26
Itarumã-GO	4,82	16,78	0,407	2,377	50,18	0,5	6,01	4,81	89,18
Chapadão do Céu-GO	5,63	9,78	0,67	7,38	51,80	2,6	14,83	6,76	78,40
Caiapônia-GO	4,44	31,8	0,65	5,35	72,34	0,9	27,42	30,97	41,61
St.A.do Descoberto-GO	5,18	22,71	0,56	4,72	65,85	2,0	20,66	47,8	31,96
Jataí-GO	4,4	20,1	1,056	9,256	30,34	3,9	41,5	15,00	71,70

5.3. Análises moleculares

O protocolo de Faleiro (2003) com algumas modificações se mostrou eficiente (Figura 4). As extrações de DNA foram bem sucedidas apresentando DNA de qualidade, com bandas nítidas e bem definidas, o que proporcionou a obtenção de marcadores moleculares RAPD que se mostraram eficientes na detecção da diversidade genética em cajuzinho-do-cerrado.

A análise da integridade do DNA foi realizada pela eletroforese em gel de agarose a 1,2%, apresentando amostras íntegras de DNA. Houve a diminuição de 1 hora no tempo de extração estabelecido por Faleiro (2003).

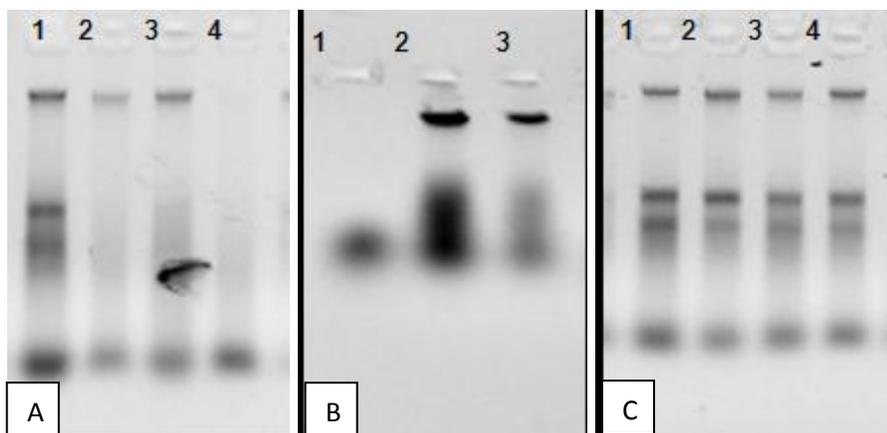


Figura 4. Géis do DNA obtido dos protocolos: A- Doyle & Doyle (1990); B- Faleiro et. al.(2003) e C- modificações de Faleiro et. al. (2003).

Foram testados 25 *primers*, somente 10 (OPA (04, 08, 09, 11 e 18); OPB (05 e 07); OPM (02 e 03); OPN (05) foram selecionados para caracterização do polimorfismo genético entre e dentro das populações naturais de *A. humile*, os quais apresentaram características imprescindíveis como qualidade, intensidade e repetibilidade (Figura 5):

A medida do parâmetro *b* (Tabela 8) mostra a heterogeneidade entre as bandas neste estudo. Os valores de *b* com os acessos dentro dos municípios variou de 0,43 (Santo Antônio do Descoberto-GO e Itarumã-GO) a 0,48 (Mineiros-GO, Jataí-GO e Aporé-GO) com alta taxa de heterogeneidade dentro dos municípios já que o valor máximo esperado para esse parâmetro é de 0,5 (Pequeno, 2003). Na análise entre os municípios o valor de $b=0,46$ foi superior ao valor encontrado entre todos os acessos que foi de $b=0,37$, evidenciando que existe maior diversidade entre os municípios do que entre todos os acessos. Resultado similar foi encontrado por Pequeno (2003), na cultura da soja onde o valor encontrado foi de $b=0,426$.

A análise feita com os acessos dentro dos municípios demonstrou que os *primers* com maior expressão foram o OPA11 e OPA08, já o menos informativo foi o OPA04 (Tabela 8). O maior número de bandas gerado foi evidenciado entre os acessos dos municípios de Mineiros-GO e Doverlândia-GO, totalizando 156 bandas, seguidos por Chapadão do Céu-GO e Barra do Garça-MT, com 155

bandas. Em contra partida os acessos constituintes do município de Caiapônia-GO geraram 136 bandas, seguido de Jataí-GO, com 138 bandas. Quanto ao polimorfismo, verifica-se valores acima de 90% para as procedências oriundas dos municípios, exceto Jataí, que apresentou 83%. A alta porcentagem de marcadores polimórficos evidencia alta variabilidade genética das procedências analisadas. Na análise de *Bootstrap* verificou-se uma quantidade variável de bandas polimórficas a partir do Coeficiente de Variação (CV) e a curvatura ajustada a 10%, indicando que o uso de aproximadamente 35 bandas (acessos do município de Jataí-GO) até 140 bandas polimórficas (acessos do município de Santo Antônio de Descoberto-GO) proporcionaria a precisão obtida para as estimativas.

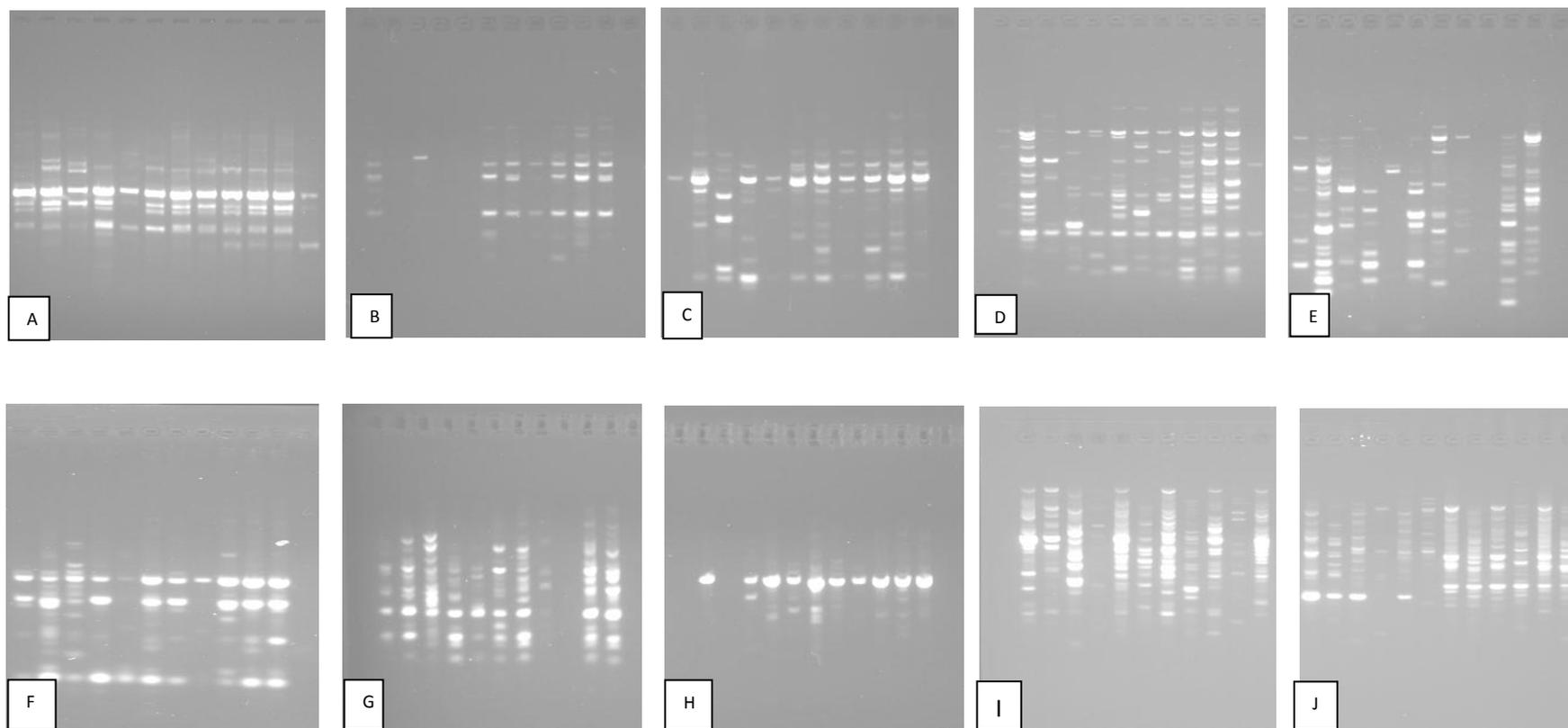


Figura 5. Produtos de ampliações de amostras de DNA genômico de cajuzinho-do-cerrado, obtidos com o uso de 10 iniciadores decâmeros na análise entre os 11 municípios (A-OPA04; B-OPM02; C-OPA08; D-OPA09; E-OPA11; F-OPB05; G-OPA18; H-OPM02; I-OPN05 E J-OPM03).

Tabela 8. Locais de coleta do cajuzinho-do-cerrado e características moleculares.

Municípios	Nbt****	Nbp	%P	Mbp	P E	P M E	BStrap	b
Aporé-GO*	154	140	91%	14	OPA11 e OPA08	OPM03	65	0,48
Barra do Garça-MT*	155	146	94%	14,6	OPA11	OPA04	50	0,47
Caiapônia-GO*	136	132	97%	13,2	OPA08 e OPA09	OPA04	45	0,46
Chapadão do Céu-GO*	155	144	93%	14,4	OPA11	OPA04	70	0,47
Santo Antonio do Descoberto-GO*	148	146	99%	14,6	OPA11	OPM03	140	0,43
Doverlândia-GO*	156	146	93%	14,6	OPA11	OPA04	40	0,47
Itajá-GO*	153	141	92%	14,1	OPA11 e OPA08	OPB05	70	0,47
Itarumã-GO*	153	143	93%	14,3	OPA- 11	OPA04	130	0,43
Jataí-GO*	138	115	83%	11,5	OPM02	OPA04	35	0,48
Mineiros-GO*	156	141	90%	14,1	OPA08	OPM03	58	0,48
Serranópolis-GO*	153	148	97%	14,8	OPA11	OPA04	118	0,45
Municípios**	146	134	92%	13,4	OPA11 e OPA08	OPN05	85	0,46
Todos os acessos***	157	156	99%	15,6	OPA11	OPA18	90	0,37

* análise realizada com os acessos dentro de cada município;

** análise realizada levando em consideração somente os municípios;

*** análise realizada com todos os 122 acessos;

****nbt = número de bandas totais; nbp = número de bandas polimórficas; % P = porcentagem de polimorfismo (ou taxa de polimorfismo); PE= *primer* expressivo; PME= *primer* menos expressivo; Mbp= Média bandas por *primer*, BStrap= bootstrap e b= medida da heterogeneidade entre bandas.

No estudo com pitayas (Junqueira et al., 2010), os marcadores RAPD também mostraram-se eficientes para detectar a variabilidade genética da espécie, porém, ao contrário do cajuzinho-do-cerrado, foi detectado baixa variabilidade genética dos acessos analisados, onde os 11 *primers* decâmeros geraram um total de 111 marcadores RAPD, perfazendo uma média de 10,1 marcadores por *primer*, além disso, dos 111 marcadores, 45 (40,54%) foram

polimórficos. No presente trabalho, na análise entre os municípios, os 10 *primers* selecionados amplificaram um total de 146 bandas, sendo que destas, 92% foram polimórficas com média de 13,4 bandas por *primer*. A análise de Bootstrap indica que é necessário o uso de no mínimo 85 bandas para as estimativas de polimorfismo entre os municípios (Tabela 9).

Tabela 9. *Primers* selecionados que apresentaram melhor padrão de bandas polimórficas e monomórficas entre os municípios.

<i>Primer</i>	Número de bandas		%Polimorfismo
	Monomórficas	Polimórficas	
OPA04	03	10	76,92%
OPM02	00	11	100,00%
OPA08	01	16	94,11%
OPA09	02	22	91,66%
OPA11	00	25	100,00%
OPN05	02	06	75,00%
OPA18	02	12	85,70%
OPB05	01	15	93,75%
OPB07	00	12	100,00%
OPM03	01	05	83,33%
Total	12	134	92%

A dissimilaridade entre os municípios variou de 0,561 a 0,138 com médias de 0,37 (Tabela 10). Os menores valores foram registrados entre os acessos oriundos das procedências dos municípios de Mineiros-GO e Serranópolis-GO. Por outro lado os acessos dos municípios de Caiapônia-GO e Santo Antônio do Descoberto-GO, foram os mais distantes geneticamente.

Tabela 10. Matriz de distâncias entre acessos de cajuzinho-do-cerrado baseado em 146 marcadores RAPD.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	0,39									
3	0,49	0,39								
4	0,39	0,41	0,37							
5	0,44	0,54	0,56	0,54						
6	0,34	0,31	0,42	0,36	0,42					
7	0,37	0,31	0,44	0,3	0,5	0,26				
8	0,43	0,5	0,53	0,4	0,46	0,43	0,38			
9	0,35	0,28	0,45	0,31	0,49	0,23	0,29	0,36		
10	0,36	0,24	0,41	0,3	0,55	0,24	0,25	0,41	0,16	
11	0,37	0,22	0,41	0,31	0,53	0,25	0,22	0,38	0,18	0,14

Observa-se no dendrograma (Figura 6) a formação de 04 grupos, levando em consideração a média da dissimilaridade entre os municípios. Dentre estes, o maior grupo foi formado pelos municípios de Aporé-GO, Barra do Garça-MT, Doverlândia-GO, Itajá-GO, Chapadão do Céu-GO, Jataí-GO, Mineiros-GO e Serranópolis-GO. Os municípios de Caiapônia-GO, Itarumã-GO e Santo Antônio do Descoberto-GO formaram grupos isolados.

Resultados similares foram encontrados por Oliveira (2009) no estudo com aceroleiras, onde foram utilizados 25 iniciadores que possibilitaram obter 108 marcadores, sendo observadas 92 marcas polimórficas, mostrando que o RAPD foi eficiente para esse estudo, discriminando os acessos e que tiveram uma variabilidade genética potencial para o programa de melhoramento genético e informações úteis, como a indicação de acessos promissores para avaliação clonal.

Os resultados obtidos em relação a todos os 122 acessos mostram que os *primers* selecionados amplificaram um total de 157 bandas, sendo que destas 99% foram polimórficas e com uma média de 15.6 bandas por *primer* (Tabela 8). A análise de *bootstrap* indicou que o uso de aproximadamente 90 locos marcadores proporcionaria a precisão para as estimativas de polimorfismo dos acessos. Também foi realizada a análise de todos os acessos desconsiderando as procedências, nesta análise verificou-se que a dissimilaridade entre os acessos variou de 0,796 a 0,103, com média de 0,39. Isto evidencia maior amplitude de

variação comparada àquelas obtidas das procedências. Os menores valores foram registrados entre os acessos 02 e 113, acessos coletados nos municípios de Mineiros-GO e Santo Antônio do Descoberto-GO respectivamente, os quais são geograficamente distantes. Por outro lado os acessos 87 e 114, que correspondem respectivamente às municípios de Serranópolis-GO e Santo Antônio do Descoberto-GO, foram os mais distantes geneticamente.

Houve alta variabilidade genética entre acessos de cajuzinho-do-cerrado procedente de diferentes municípios e entre acessos dos mesmos municípios, formando grupos heterogêneos (Figura 7), sendo que estes devem ser mais estudados, tendo em vista o grande distanciamento genético desses acessos dentro da mesma procedência, o que evidencia maior probabilidade de se coletar indivíduos e suprir com maior facilidade o maior número de alelos possível da espécie.

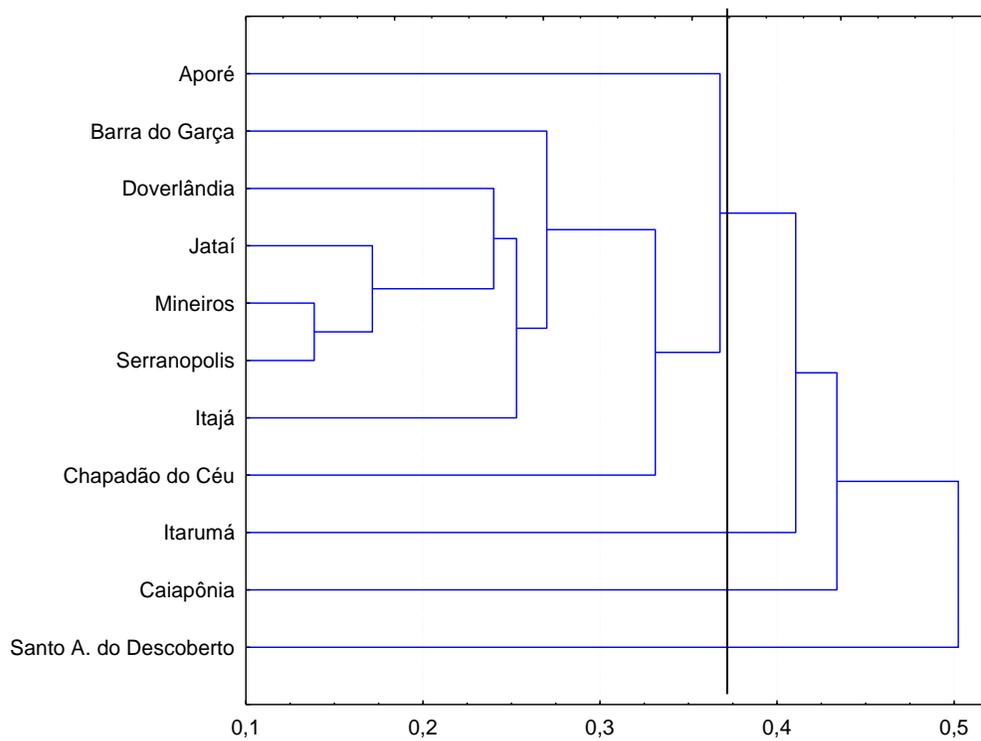


Figura 6. Dendrograma de distâncias genéticas entre 11 procedências de cajuzinho-do-cerrado obtido pelo método UPGMA, com base na matriz de marcadores de RAPD (Distância genética média = 0,37).

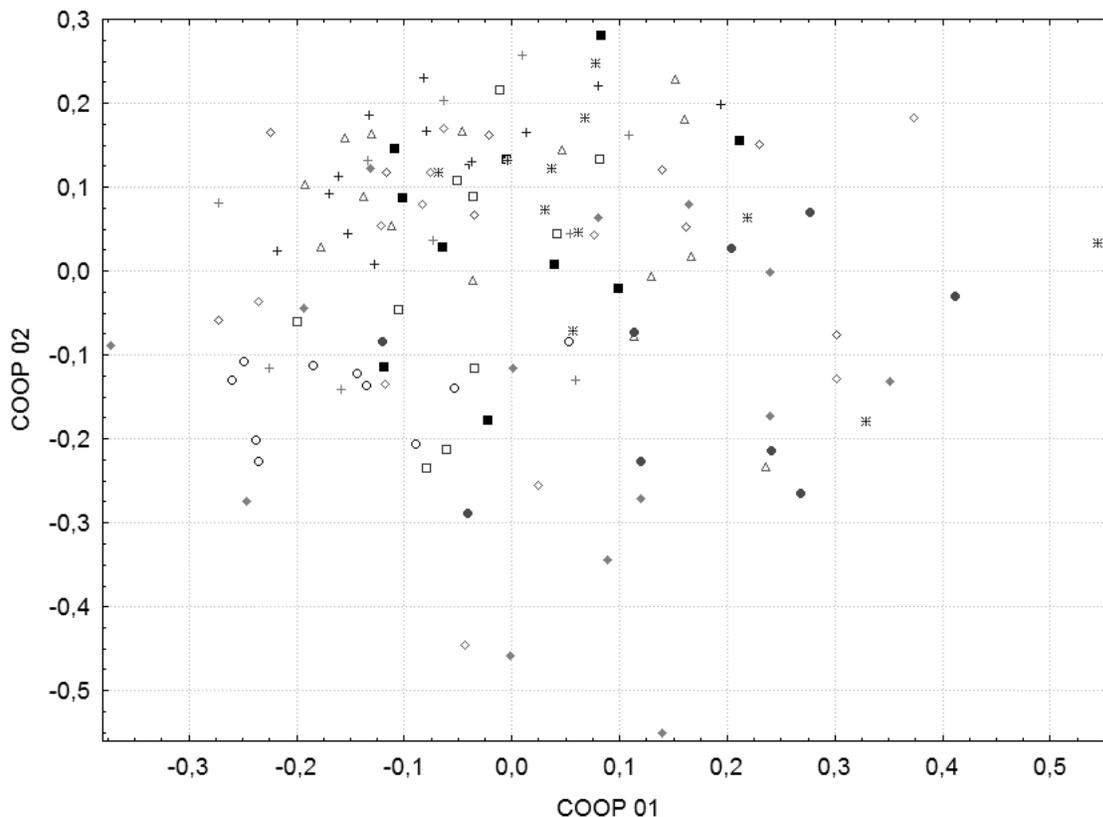


Figura 7. Dispersão gráfica em 2 dimensões (2D) relativa a formação de grupos dentro de procedências de cajuzinho-do-cerrado entre os 11 município (◇ Aporé-GO; △ Barra do Garça- MT; ● Caiapônia-GO ■ Chapadão do Céu-GO; ▲ Doverlândia-GO; + Itajá-GO; * Itarumã-GO; ○ Jataí-GO; □ Mineiros-GO ◆ Santo Antônio do Descoberto-GO e ◇ Serranópolis-GO).

Os acessos de Santo Antônio do Descoberto-GO apresentaram uma grande variabilidade genética, estando próximo geneticamente de acessos geograficamente distantes e ao mesmo tempo apresentando-se diferentes dos demais acessos.

Os resultados gerados neste trabalho corroboram com a literatura quando comparados a outros trabalhos com RAPD, demonstrando a importância desses marcadores na análise de variabilidade de espécies pouco estudadas como o *Anacardium humile* A. St. Hill (cajuzinho-do-cerrado).

A Tabela 11 contém os valores estimados dos índices de diversidade genética. A porcentagem de bandas polimórficas observadas (P) variou de 77,71% a 96,18%, sendo que apenas as procedências “9 e 3” apresentarão P inferiores a 90%. A menor porcentagem de bandas polimórficas encontradas neste trabalho (77,71%) foi próxima dos resultados obtidos por Oliveira et al. (2008), já as demais

porcentagens de bandas polimórficos encontradas neste trabalho foram próximas aos encontrados por Zimback et al. (2004) e Moura (2005) que em seus estudos relataram porcentagens de bandas polimórficas variando de 90,3 a 97,3%. Valores inferiores da porcentagem de polimorfismo encontrados neste estudo são relatados na literatura com variação de 7% ate 30% (Black-Samuelsson et al. 1997; Lakshimi et al. 1997; Palácios & Gonzáles- Candelas, 1997).

Tabela 11. Diversidade genética de populações naturais de *Anacardium Humile* A. St. Hill

Municípios	P	na*	ne*	h*	I*
Aporé	90,45	1,9045 (0,2949	1,5847 (0,33)	0,3365 (0,1598)	0,4979 (0,213)
Barra do Graça	92,99	1,9299 (0,2561)	1,6469 (0,3114)	0,3658 (0,1467)	0,5353 (0,1939)
Caiapônia	84,08	1,8408 (0,3671)	1,4511 (0,3394)	0,2714 (0,1726)	0,4135 (0,2356)
Chapadão do Céu	92,36	1,9236 (0,2665)	1,5857 (0,3187)	0,34 (0,1501)	0,5052 (0,1973)
St. A.do Descoberto	92,99	1,9299 (0,2561)	1,5183 (0,2952)	0,3147 (0,1412)	0,4776 (0,1862)
Doverlândia	91,08	1,9108 (0,2859)	1,6615 (0,316)	0,3701 (0,1509)	0,5384 (0,2022)
Itajá	96,18	1,9618 (0,1923)	1,6579 (0,2859)	0,3747 (0,1314)	0,5497 (0,1687)
Itarumã	93,63	1,9363 (0,245)	1,5656 (0,329)	0,3299 (0,1529)	0,4937 (0,1977)
Jataí	77,71	1,7771 (0,4175)	1,5431 (0,3827)	0,3046 (0,1947)	0,4452 (0,2696)
Mineiros	91,08	1,9108 (0,2859)	1,6067 (0,3256)	0,3468 (0,1558)	0,5111 (0,207)
Serranópolis	95,54	1,9554 (0,2071)	1,6192 (0,2977)	0,3581 (0,1358)	0,5301 (0,1741)
Total	100	2 (0)	1,6674 (0,2573)	0,3842 (0,1065)	0,5662 (0,1245)

* (): desvio-padrão; h: diversidade genética de Nei; I: índice de Shannon de diversidade fenotípica; na: número de alelos observados; ne: número de alelos efetivos; P: porcentagem de locos polimórficos.

O número de alelos observados (na) variou de 1,7771 a 1,9618, enquanto o número de alelos efetivos (ne) variou de 1,4511 a 1,6615, entre as populações

A distribuição da diversidade genética (h) entre e dentro das populações foi calculada de acordo com Nei (1978) variando de 0,2714 (procedência 03) a 0,3744 (procedência 06), demonstrando que 27,14% da variabilidade genética se encontra entre populações e 37,44% dentro das populações (Tabela 11), sugerindo que existem locos em todas as populações que apresentam elevada diversidade esperada para um loco com dois alelos. Apesar de ser uma espécie

com populações ameaçadas pela agricultura intensiva, pela fragmentação da paisagem e pelo extrativismo exploratório, existe uma grande variabilidade genética provavelmente em função das estratégias reprodutivas adotadas pela espécie ao longo de sua evolução. As populações do gênero *Anacardium* apresentam um alto nível de heterogeneidade devido seu sistema reprodutivo ser predominantemente alogâmico (Barros, 1995). Entretanto, estudos com biologia da reprodução do *A. humile* devem ser realizados com o intuito de conhecer melhor as estratégias reprodutivas, que possibilitam novas combinações genotípicas nos descendentes (Lovelles & Hamrick 1984). Os valores de diversidade de Nei (h) encontrados neste estudo podem ser considerados próximos, aos encontrados em outros trabalhos, como: Zimback et al (2004), Moura (2005) e Estopa et al. (2006) os quais variaram de 0,27 a 0,36.

Segundo Yeeh et al. (1996) a manutenção da variabilidade genética em populações é a base para a conservação de espécies, ou seja, quanto maior a variabilidade genética existente na população maiores são as chances de perpetuação da referida espécie.

O índice de Shannon, segundo Oliveira et al. (2008), varia de 0 a 1 e considera-se que, quanto mais próximo de zero, mais baixa é a diversidade. Os valores estimados para o índice de Shannon (I) (Tabela 11), variaram de 0,4135 a 0,5497. Os valores de (I) encontrados neste estudo foram superiores aos encontrados em outras espécies, em que foram utilizadas metodologias similares. Lacerda et al (2001) observaram valores de (I) variando de 0,302 a 0,367 em *Plathymenia reticulata*, já Torezan et al (2005) obteve (I) igual a 0,410 em indivíduos adultos de *Aspidosperma polyneuron*.

A distribuição da variabilidade genética entre e dentro das populações foi estimada de acordo com Nei (1978) (Tabela 12), a divergência genética encontrada foi de 0,1167 e demonstra que 11,67% da variabilidade genética se encontra entre populações e 88,33% dentro das populações. Zimback et al (2004), estudando populações de *Trichila pallida*, encontraram um divergência genética entre suas populações um pouco superior (12,5%) ao encontrado neste estudo.

Tabela 12. Parâmetros genéticos populacionais de *Anacardium humile* A St. Hill.

	HT	HS	GST	Nm*
Média	0,3821	0,3375	0,1167	3,7852
Desvio Padrão	0,0115	0,0093		

HT: heterozigosidade total; HS: diversidade genética média dentro; GST: divergência gênica entre populações; e Nm: fluxo gênico.

Os resultados da análise de variância molecular (Tabela 13) demonstram que a maior variação (93,36%) está presente dentro das procedências de cajuzinho-do-cerrado. Porém, os valores de variação encontrados entre populações (6,64%), embora baixos, foram altamente significativos. Resultados próximo foram relatados por Franzon et al. (2010), o qual obteve 86,64% de variação dentro de suas populações e apenas 6,1% entre elas, mesmo sendo o valor entre populações baixo este foi altamente significativo. Gavião et al. (2007) encontraram em *Butia eriospatha* 89,86% da variabilidade genética dentro das populações e 10,14% entre populações.

O valor de Fst observado no presente trabalho (Tabela 13) foi de 0,0664. Valores de Fst entre 0,05 e 0,15 sugerem moderada diferenciação genética entre as populações (Wright, 1978).

Tabela 13. Análise de Variância Molecular (AMOVA) de populações naturais de *Anacardium humile* A St. Hill.

FV	GL	SQ	QM	Porcentagem	P
Entre	10	498.9744	49,8974	6.639	<0,001
Dentro	111	3101.0082	27,9372	93.360	<0,001
Total	121	3600.0082	29,7521		
Fst	0,0664**				

*FV= fator de variação; GL= grau de liberdade; ** significativo ao nível de 1% de probabilidade de erro.

Foi observada um valor de heterozigosidade total (HT) estimada de 0,3821. Valores parecidos foram encontrados por Oliveira et al. (2008) no estudo com Fava D'anta.

Tabela 14. Análise de Variância dentro das procedências de cajuzinho-do-cerrado.

Procedências	P	ØST
Aporé-GO	98,914	0,109
Barra do Garça-MT	86,088*	0,139*
Caiapônia-GO	89,089	0,109
Chapadão do Céu-GO	70,757**	0,292*
Santo Antônio do Descoberto-GO	97,351*	0,265*
Doverlândia-GO	83,246*	0,167*
Itajá-GO	90,606	0,093
Itarumã-GO	93,458	0,654**
Jataí-GO	86,010	0,139**
Mineiros-GO	76,208**	0,237*
Serranópolis-GO	90,210	0,979**

*= significativo a 5%; **= significativo a 1%; P= porcentagem; ØST= variabilidade intrapopulacional.

Na Tabela 14 observa-se os valores de divergência genética dentro das procedências e a quantidade de fluxo gênico nas mesmas. A divergência genética dentro de cada procedência variou de 70,757% a 98,914%, porém as divergências significativas variaram de 70,757 a 97,351, demonstrando que ainda existe divergência entre os acessos estudados, nas procedências. Os acessos constituintes da procedência de Santo Antônio do Descoberto têm valor de P superior a 90%, este resultado confirma o posicionamento isolado desta em relação as demais na Figura 7.

Os índices de ØST específicos de cada população é uma medida da variabilidade intrapopulacional. Estes valores variaram de 0,093 a 0,979. Pode se perceber que dentro de algumas procedências esta ocorrendo de moderado a alto fluxo gênico. Em contra partida os acesso constituintes das procedências de Aporé-GO, Caiapônia-GO e Itajá-GO não apresentaram fluxo gênico significativo uma vez que apresentaram valores menores ou iguais a 0,109, segundo Wigth (1931) isso indica que pode estar acontecendo deriva genética.

Estes resultados podem ser justificados pelo comportamento da espécie, bem como estratégias de sobrevivência adotada pela mesma ao longo de sua

evolução. Pôde-se inferir após observações a campo que esta diferenciação entre populações de cajuzinho-do-cerrado deve possuir polinização aberta e só não foi mais acentuada devido à ocorrência de grande quantidade de sementes abortadas, ou mesmo pela incapacidade de flores hermafroditas não formarem o fruto. Outras razões pode ser a tendência dos grãos de pólen dos estames permanecerem unidos á antera após a deiscência, e que, nas flores estaminadas somente um entre oito a dez estames é fértil (Ferrão, 1995).

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste trabalho foi possível concluir que:

- A caracterização morfológica e genética da espécie forneceu um banco de informações sobre fonte de genes para utilização futura, instruindo a pesquisa para evitar a perda destes recursos, que podem ter grande importância para a família Anacardiaceae e para o desenvolvimento desta fruteira de Cerrado com fins a comercialização;
- As variáveis, diâmetro da copa, altura da planta e altura do caule apresentaram contribuição relativa para a variação total e são importantes na caracterização dos acessos por se apresentarem importantes na discriminação da divergência;
- A técnica RAPD mostrou-se eficiente na caracterização genética da espécie nativa *Anacardium humile* St. Hill, indicando uma grande variabilidade genética entre os acessos;
- O município de Santo Antônio do Descoberto apresentou maior variabilidade, comparado aos outros municípios, indicando um maior poder informativo de diversidade, podendo ser utilizado como local de estudos *in situ* e suas matrizes potenciais fornecedoras de materiais para estruturação de coleções *ex situ*;
- A maior parte da variabilidade da espécie está dentro de suas populações.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, M.J.N.; COSTA, C.A.R. Exigências Climáticas. In BARRO, L. M. (ed.) **Caju: Produção: aspectos técnicos**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. p. 21-25. (Frutas do Brasil, 30).

ALMEIDA, S.P., PROENÇA, C.E.B., SANO, S.M. & Ribeiro, J.F. 1998. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Embrapa-Cpac, Planaltina.

ARAUJO J.P.P. & SILVA, V. V. **CAJULCULTURA: Modernas Técnicas de produção**. Fortaleza: EMBRAPA/CNPAT, 1995. 292p

AVISE, J.C. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman and Hall, New York.

AVISE, J. C.; HAMRICK, J. L. *Conservation genetics: case histories from nature*. New York: Chapman & Hall, 1996.

BARROS, L. de M.; CRISÓSTOMO, J.R. **Melhoramento genético do cajueiro**. In: ARAÚJO, J. P. P. de, SILVA, V. V. da (Org.) *Cajucultura: modernas técnicas de produção*. Fortaleza: EMBRAPA - CNPAT, 1995.p. 73-93.

BARROS, A. M.; FALEIRO, F. G.; KARÍA, C. T.; SHIRATSUCHI, L. S.; ANDRADE, R. P.; LOPES, G. K. Variabilidade genética e ecológica de *Stylosanthes macrocephala* determinadas por RAPD e SIG. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.9, p.899-909, set. 2005.

BARROSO, G.M., MORIM, M.P., PEIXOTO, A.L. & ICHASO, C.L.F. 1999. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Editora Ufv, Viçosa.

BELLON, Graciele et al. Variabilidade genética de acessos obtidos de populações cultivadas e silvestres de maracujazeiro-doce com base em marcadores rapd. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, Mar. 2009 .

CAVALCANTI, J. J. V. **EMBRAPA FAZ MAPEAMENTO GENÉTICO DO CAJUEIRO** Fonte: <http://www.embrapa.gov.br/>, Data Edição: 24/03/05. ACESSADO EM 12/06/2009.

CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B.; BRITO, G. G.; SAKIYAMA, N. S. Tipos de marcadores moleculares. In BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. (Ed.). **Marcadores Moleculares** – Viçosa, MG, 2006. p. 9-78.

CARVALHO, M.P; SANTANA, D.G.; RANAL, M.A. Emergência de plântulas de *Anacardium humile* a. St. -Hil (Anacardiaceae) avaliada por meio de amostras pequenas; Revista Brasileira de Botânica, São Paulo, v.28, p.627-633, 2005.

COELHO, A. S. G. Dboot: avaliação dos erros associados a estimativas de distâncias/similaridades genéticas através do procedimento de bootstrap com números variáveis de marcadores (software). [S.I]: Laboratório de Genética Vegetal, Instituto de Ciências Biológicas, UFG, 2000.

CORRÊA, M.P. 1984. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Imprensa Nacional, Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, Rio de Janeiro.

CRISÓSTOMO, J. R; Cavalcanti, J. J. V.,, 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.** Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - Sp, v. 24, n. 2, P. 477-480, Agosto 2002.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. Diversidade genética. In: CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. (Ed.). **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético** Viçosa: UFV, 2003. v. 2, Cap. 6, p. 338-434.

CRUZ, C. D. **Programa Genes: Análise multivariada e simulação**. Ed. UFV, 2006.

CRUZ, C.D. Programa genes: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 1997. 442p.

CRUZ, C. D. & CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. Ed. Ver. – Viçosa: Ed. UFV. 2006

DALPONTE, J.C. & LIMA, E.S. 1999. **Disponibilidade de frutos e a dieta de *Lycalopex vetulus* (Carnivora- Canidae) em um cerrado de Mato Grosso, Brasil**. Revista Brasileira de Botânica 22:325-332.

DOYLE, J.J. and **DOYLE, J.L.** (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.

ESTOPA, R. A. et al. Diversidade genética em populações naturais de candeia (*Eremanthus erythropapus* (DC.) MacLeish). **Scientia Florestalis**, n.70, p.97-106, 2006.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.; QUATTRO, J. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes - application to human mitochondrial-DNA restriction data. **Genetics**, Maryland, v.131, n.2, p.479-491, 1992.

FALEIRO, F. G.; FALEIRO, A. S. G.; CORDEIRO, M. C. R.; KARIA, C. T. **Metodologia para operacionalizar a extração de DNA de espécies nativas do cerrado visando a análises moleculares**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003. 5p. (Embrapa Cerrados Comunicado Técnico, 92).

FERRÃO, J.E.M. **A aventura das plantas e os descobrimentos portugueses**. 2ª ed. Fundação Berardo, 1992. p. 85-90.

FERRÃO, J.E.M. 1995. **O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.)**. Instituto de Investigação Científica Tropical, Lisboa.

FERREIRA, M.B. **Frutos comestíveis nativos do DF (II): gabioba, araçás, amoreiras e caju**. **Cerrado**, 1973, v.5, p. 25-29.

FERREIRA, M. E. & GRATTAPAGLIA, D. 1995. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2a. ed. Brasília, EMBRAPA/CENARGEN, 220 pp

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3ª ed. Brasília: EMBRAPA – CENARGEN, 1998. pp. 220.

FRAZON,R.C et al., **Variabilidade genética em populações de pitangueira oriundas de autopolinização e polinização livre, acessada por AFLP**. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 32, n. 1, p. 240-250, Março 2010

FROTA, P.C. E. CLIMA E FENOLOGIA. IN: LIMA, V. De P. M.S. (ed.). A cultura do cajueiro no Nordeste do Brasil. Fortaleza: BNB- ETENE, 1988. p.73-80.

FUTUYMA, D. J. **Biologia evolutiva**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 631 p.

GAVIÃO, C.F.C. et al., ANÁLISE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES RAPD. Comunicado técnico 170. ISSN 9192-0099, EMBRAPA,Dezembro 2007, Brasília-DF.

GALETTI, M. PIZO, M.A.; MORELLARO, P.C. **Fenologia, frugivoria e dispersão de sementes** In: CULLE JR, L., RUDRAN, R., VALLADARES-PADUA, C. (org). Métodos de estudos em biologia de conservação e manejo da vida silvestre. Paraná: UFPR, 2003. P.395-422.

GONÇALVES JLS, Lopes RC, Oliveira DB, Costa SS, Miranda MMFS, Romanos MTV Santos NOS, Wigg MD. In vitro anti-rotavirus activity of some medicinal plants used in Brazil against diarrhea. **Journal Ethnopharmacol** 99:403-407, 2005.

GRANDO, C., Aspectos da demografia do cajueiro- do- campo (*Anacardium humile*) em áreas de Cerrado do Estado de São Paulo e construção de bibliotecas enriquecidas de microssatélites para a espécie / Carolina Grando—Piracicaba, 2009. 76 p. II. Dissertação (mestrado)—Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2009.

HOEHNE, F.C. 1979. **Enumeração das principais espécies de fruteiras indígenas, pela ordem alfabética de suas famílias.** In Frutas indígenas (F.C. Hoehne, ed.). Instituto de Botânica, São Paulo, p.13-79.

JUNQUEIRA, Keize Pereira et al . Variabilidade genética de acessos de pitaya com diferentes níveis de produção por meio de marcadores RAPD. **Revista Brasileira Fruticultura.**, Jaboticabal, v. 32, n. 3, Sept, 2010.

KLINK, C. A.; Machado, R. B. **Conservation of the brasilian cerrado.** Conservation Biology, Washington, v.19, p.707-713, 2005.

LACERDA D. R.; ACEDO M. D. P.; LEMOS FILHO J. P. & LOVATO M. B. **A técnica de RAPD: uma ferramenta molecular em estudos de conservação de**

plantas. Instituto de Ciências Biológicas – UFMG ISSN 1676-6180. Belo Horizonte, MG, Brasil. 2002. E-mail: dlacerda@dedalus.lcc.ufmg.br

LAMEIRA CP, Coelho GLV, Mothé CG. **Extração de lipídeos da amêndoa decastanha de caju com supercrítico.** Ciência de Tecnologia de Alimentos 17:405-407, 1997.

LANS C, Hapert T, Georges K, Bridgewater E. Medicinal plants used for dogs inTrindad and Tobago. Preventive Veterinary Medicine 45:533-537, 1999

LAKSHIMI, M. et al. Molecular phylogeny of magroves I. Use of molecular markers in assessing the intraspecific genetic variability in the mangrove species *Acanthus ilicifolius* Linn. (Acanthaceae). Theoretical and Applied Genetics, v.94, n.8, p.1121-1127, 1997.

LIMA, V. P. M. S. Botânica. In: LIMA, V. P. M. S. **A cultura do cajueiro no nordeste do Brasil.** Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 1988. p. 15-61.

Myers, N., R. A. Mittermeir, C. G. Mittermeir, G. A. B. Fonseca & J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature 403: 853-858.

LOPEZ-NARANJO, H. J. Estrutura morfológica de *Anacardium humile* A. St. Hill. (Anacardiaceae). 1975. 80 p. Dissertação (Mestrado em Biologia)- Universidade de São Paulo, 1975.

LÓPEZ-NARANJO, H. & PERNÍA, N.E. 1990. **Anatomia y ecología de los organos subterrneos de *Anacardium humile* A. St. -Hil. (Anacardiaceae).** Revista Forestal Venezolana 24:55-76.

LORENZI, H. 1998. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Editora Plantarum, Nova Odessa.

LORENZI, H. frutas brasileiras. Nova Odessa: Plantarum, 2006. 627 p.

MACHADO, S.R. & CARMELLO-GUERREIRO, S.M. 2001. **Estrutura e desenvolvimento de canais secretores em frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)**. Acta Botanica Brasilica 15:189-195.

MELO J.T., SILVA, J.A., TORRES, R.A.A., SILVEIRA, C.E.S. & CALDAS, L.S. 1998. Coleta, propagação e desenvolvimento inicial de espécies do cerrado. *In* Cerrado: ambiente e flora (S.M. Sano & S.P. Almeida, Eds.). Embrapa-Cpac, Planaltina, p.195-243.

MOURA, M. C. O. Distribuição da variabilidade genética em populações naturais de *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish por isoenzimas e RAPD. 2005. 165f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

MYERS, N., R. A. Mittermeir, C. G. Mittermeir, G. A. B. Fonseca & J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.

NAVES, R.V., BORGES, J.D., ROCHA, M.R., CHAVES, L.J. E VIDAL, V.L. Emergência de plântulas de cagaita *Eugenia dysenterica* DC em viveiro. *In*: Revista Brasileira de Fruticultura. Cruz das Almas 14 (3): 1992. p. 37-40.

NEI, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 70(12): 3321-3323.

NEI, M., Estimation of Average Heterozygosity and Genetic Distance From a Small Number of Individuals. *Genetics* **89**: 583-590 July, 1978.

NEI, M.; LI, W. H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, Washington, v.76, n. 10, p. 5269-5273, 1979.

NEIGEL, J.E. A comparison of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers. **Annual Review Ecology Systematics**, v.28, p.1105-128,197.

NEWTON, A. C.; ALLNUTT, T. R.; GILLIES, A. C. M.; LOWE, A. J.; ENNOS, R. A. Molecular phylogeography, intraspecific variation and the conservation of tree species. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 14, p. 140-145, 1999.

NUNES, Adrise Medeiros et al . Caracterização molecular de butiazeiro por marcadores RAPD. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 30, n. 3, Sept. 2008.

OLIVEIRA, M. do S. P. de et al. Diversidade genética entre acessos de açazeiro baseada em... DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE AÇAIZEIRO BASEADA EM MARCADORES RAPD (1). Genetic diversity among accessions of assai palm based on rapd markers. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1645-1653, nov./dez., 2007.

OLIVEIRA, D.A. et al.. Variabilidade Genética de Populações de Fava D'anta (*dimorphandra mollis*) da Região Norte do Estado de Minas Gerais. *Revista Árvore*, Viçosa-MG, v.32, n.2, p.355-363, 2008

OLIVEIRA, Marcos Góes et al . Diversidade genética de aceroleiras (*Malpighia emarginata* D.C.), utilizando marcadores moleculares RAPD e características morfoagronômicas. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, Mar. 2009.

PALÁCIOS, C.; GONZÁLES-CANDELAS, F. Analysis of population genetic structure and variability using RAPD markers in the endemic and endangered

Limonium dufourii (Plumbaginácea). *Molecular Ecology*, v.6, n.12, p.1107-1121, 1997.a

PEQUENO, S.A.; PINHEIRO, J.B.; ZUCCHI, M.I.; VENCOVSKY, R.; COELHO, A.S.G.; TRINDADE, M.G. Determinação do número de marcadores RAPD para estudos da diversidade genética em soja utilizando o método *Bootstrap*. Uberlândia, v.19, n.2, p.45-48, 2003.

PESSONI, L. A, D. SC., UFV, março de 2007. - **Estratégias de análise de diversidade em germoplasma de cajueiro (*Anacardium spp. L*)**

PINTO, Jefferson Fernando Naves. Variabilidade genética de guariroba (*Syagrus oleracea* Becc.) determinadas por descritores morfológicos e marcadores RAPD [manuscrito] / Jefferson Fernando Naves Pinto. -2009. Xii, 81 f.: Il., color., figs. Dissertação (mestrado)- Universidade Federal de Goiás, Campus Jatai, Programa de Pós Graduação em Agronomia, 2009.

RIZZINI, C. T. Espécies novas de árvores do Planalto Central Brasileiro. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 1969, v. 41, p. 239-244.

RIGONATO, Valney Dias, ALMEIDA, Maria Geralda de. **A Singularidade do Cerrado: a Interrelação das Populações Tradicionais com as Fitofisionomias**. Publicado originalmente em: VIII EREGEO – Encontro Regional de Geografia. A geografia no mundo da diversidade. Cidade de Goiás. Outubro de 2003.

SALLA, M.F.S.; RUAS, C.F.; RUAS, P.M.; PÍPOLO, V.C. Uso de marcadores moleculares na análise da variabilidade genética em acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, p.15-22, 2002.

SANTOS, Vanessa Kelly dos. Uma generalização da distribuição do índice de diversidade generalizada por Good com aplicação em Ciências Agrárias/ Vanessa Kelly dos Santos. –2009. 57 f.

SAS INSTITUTE. SAS/STAT: user's guide. Version 6, 4th ed. North Caroline, 1990.

SILVA, D. S.; SILVA, J. A. JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M.. **Frutos do cerrado**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2001.178 p.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding, Elhi, v.41, n.1, p.237-245, 1981.

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

STATSOFT INC. Statistica for Windows [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, 1999.

TIVANG, J.G.; NIENHIUS, J.; SMITH, O.S. Estimation of sampling variance of molecular marker data using the bootstrap procedure. Theoretical Applied Genetics, Berlim v.89, n.2/3, p.259-264, oct.1994.

VIEIRA, A.P.; PEREIRA, T.N.S.; PEREIRA, M.G.; AMARAL JR, A.T.; SOUZA, M.M.; MALDONADO, F.F.M. Diversidade Genética entre Acessos do Banco de Germoplasma de Mandioca da Embrapa Cerrados. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 11., 2005, Campo Grande. Anais... CD-ROM, 2005.

WEISING, K. et al. **DNA fingerprinting in plants and fungi**. New York: CRC Press, 1995. 322p.

WELSH, L.; McCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary *primers*. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 18, n. 24, p. 7213-7218, Dec. 1990.

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

WRIGHT, S. Evolution in mendelian populations. *Genetics*, v.16, p.97-159, 1931.

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, v.15,p.395-420, 1951.

Wright, S Evolution and genetics of populations: Variability within and among natural populations.Vol. 4, University of Chicago Press, Chicago, USA(1978).

YOKOYAMA, L. P.; KLUTHCOUSKI, J.; OLIVEIRA, I. P. **Impactos socioeconômicos da tecnologia “Sistema Barreirão”**. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA-CNPAP, 1998. 37p. [EMBRAPA-CNPAP-BOLETIM DE PESQUISA].

YOUNG, A. et al. Forest conservation genetics. Melbourne: CSIRO Publishing, 2000. 352p.

ZUCCHI, M. I. Análise da estruturagenética de *Eugenia dysenterica* DC utilizando marcadores RAPD e SSR. 2002. 130f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2002.