

Diversidade genética entre cajueiros comerciais

A. R. C. Rabbani¹; A. V. C. Silva²; E. N. Muniz²; A. S. Léo²; Z. B. R. Quirino²

¹Universidade Federal do Vale do São Francisco, 56300-000, Petrolina-Pe, Brasil

²Embrapa Tabuleiros Costeiros, 49025-040, Aracaju-Se, Brasil

alliviarouse@hotmail.com

(Recebido em 05 de março de 2012; aceito em 06 de junho de 2012)

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é uma espécie frutífera de grande importância econômica, principalmente para alguns Estados do Nordeste brasileiro. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a diversidade genética de oito clones de cajueiros utilizados comercialmente por meio de marcadores RAPD. Os genótipos foram oriundos do Banco de Germoplasma da Embrapa Agroindústria Tropical (Embrapa-CNPAT), e avaliados quanto à diversidade genética. Utilizando 15 iniciadores na análise RAPD, houve a amplificação de todas as amostras, produzindo 174 bandas polimórficas. O índice de similaridade genética de Jaccard variou entre 0,09 – 0,46. A maior distância genética foi observada entre o 'Embrapa-51' e 'CPP 06'. Foram encontradas correlações morfológicas entre os grupos formados pelo método UPGMA e ACoP. Os marcadores RAPD permitiram a discriminação dos cajueiros, sendo uma ferramenta útil para mensuração da diversidade, podendo os resultados ser utilizados em programas de melhoramento genético da espécie.

Palavras-chave: *Anacardium occidentale* L.; marcadores moleculares; variabilidade

The cashew (*Anacardium occidentale* L.) is a fruit of great importance especially in the northeast of Brazil. The aim of this study was to evaluate the genetic diversity among eight clones of cashew using RAPD markers. The genotypes are part of the collection of Germplasm Bank of Embrapa Tropical Agroindustry (Embrapa-CNPAT). 15 RAPD primers produced 174 polymorphic bands. The range of Jaccard genetic similarity was 0.09 - 0.46. The EMBRAPA-51 and CCP-06 showed higher genetic divergence. Morphological correlations were found between the groups formed by UPGMA and PCoA. The RAPD markers allowed discrimination of cashew clones, and useful of a tool for measuring diversity, the results can be used in breeding programs of the species.

Keywords: *Anacardium occidentale* L.; molecular markers; variability

1. INTRODUÇÃO

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) ocupa lugar de destaque entre as frutíferas cultivadas em zonas tropicais. No Brasil, a exploração econômica do cajueiro, tanto para produção de castanha como para consumo *in natura*, concentra-se na região Nordeste - responsável por 94% da produção - principalmente nos Estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte. Na década de 90 a cajucultura expandiu-se significativamente para os Estados de São Paulo, Mato Grosso, Maranhão e Bahia (Barros et al., 2009).

Devido a um sistema reprodutivo predominantemente alogâmico, há um alto nível de heterogeneidade nas populações de cajueiro (Barros, 1988). Por isso, ainda não foi possível estabelecer variedades na espécie, sendo distinguidos apenas como tipo comum ou tipo anão precoce. Os programas de melhoramento genético do cajueiro baseiam-se no cajueiro anão precoce, que tem origem na Amazônia e possui importantes características agronômicas (Mitchell e Mori, 1987).

O *Bioversity International* estabeleceu 82 descritores para a caracterização do cajueiro. De acordo com Barros (1999), nenhuma avaliação crítica foi feita sobre a eficiência desses descritores na caracterização de acessos em Bancos de Germoplasma (BAG) de cajueiro. Mohan et al. (1987), na Índia, aplicaram o método dos escores utilizando apenas nove descritores agronômicos e dividiram os 161 acessos de cajueiro avaliados em 12 grupos de diversidade. Barros (1991), no Brasil, utilizou 30 descritores botânico-agronômicos em 67 acessos e, empregando análise de componentes principais concluiu que é possível uma boa estimativa da variabilidade do Banco de germoplasma de caju (BAG-caju) pela análise dos

componentes principais, conjunta com o emprego da distância Euclidiana e agrupamento pelo método de Tocher, principalmente na avaliação de grande número de caracteres morfométricos. Conclui também que a aplicação de todos os descritores, além de difícil, não é necessária, já que muitos deles são dispensáveis por representarem pouco da variação total ou serem correlacionados com outros descritores de mais fácil aplicação.

A variabilidade genética contida na coleção do BAG-caju permitiu a obtenção, na década de 80, dos quatro primeiros clones de cajueiro anão precoce. Esses clones são ainda hoje recomendados para o plantio comercial, o que ocasionou um grande impulso na cajucultura brasileira na época, pois além da redução do porte da planta, foi possível aumentar a produtividade média de 250 para 1.300 kg/ha/ano, em regime de sequeiro (Barros e Crisóstomo, 1995). Além disso, foram obtidos híbridos interespecíficos de *A. occidentale* x *A. othonianum* e *A. occidentale* x *A. microcarpum*, com objetivos de inserir alelos de resistência à antracnose e qualidades desejáveis para caju de mesa (Barros, 1999).

O melhoramento convencional de plantas tem dado significativas contribuições no setor produtivo, através de notáveis ganhos de produtividade agrícola, com o maior número de exemplos advindo de espécies anuais cultivadas em zonas temperadas. Com as plantas tropicais, particularmente com as espécies perenes, os avanços obtidos através do melhoramento de plantas são menos expressivos, apesar do potencial de diversas espécies que apresentam diversidade genética em níveis favoráveis a ganhos mais significativos.

Especificamente com o cajueiro, planta cuja diversidade no Brasil permite considerar muito baixa a atual produtividade registrada quando comparada com a variabilidade observada para o caráter, os ganhos de seleção já conseguidos nos programas de melhoramento foram expressivos (Barros, 1999). Entretanto, como a expansão do cultivo vem sendo com base apenas nos clones CCP-76 e CCP-09 de cajueiro anão precoce, gerados na Estação Experimental de Pacajus, na transição litoral-caatinga, a situação torna-se preocupante pela possibilidade de prejuízos econômicos, devido a esperados problemas de adaptabilidade. Daí, a importância de estudos na área de recursos genéticos e melhoramento do cajueiro, na tentativa de caracterização e geração de clones adaptados a novos ambientes, o que é bem possível, já que há disponibilidade de uma grande variabilidade genética da espécie.

O manejo eficiente do germoplasma vegetal é de vital importância para o pesquisador, pois este precisa de certa quantidade do germoplasma geneticamente puro e bem caracterizado, para utilizá-lo em suas pesquisas e para o melhoramento genético. Sendo assim, os marcadores baseados no polimorfismo de DNA, como RAPD (polimorfismo de DNA amplificado ao acaso) (Williams et al., 1990), têm uma aplicação muito importante na administração de recursos genéticos, pois proporcionam dados básicos que são necessários ao melhoramento de plantas ou para o mapeamento de genes (Bretting e Widrechner, 1995).

Os marcadores moleculares geram uma grande quantidade de caracteres adicionais que, combinados com características fenotípicas, fornecem um quadro mais completo para o agrupamento dos genótipos e o planejamento de cruzamentos, como, por exemplo, a identificação e discriminação de genótipos, a quantificação da variabilidade genética existente ao nível de sequência de DNA (Ferreira e Grattapaglia, 1995).

A utilização desses marcadores tem sido empregada extensivamente em plantas, e vem desempenhando um papel fundamental. Nos últimos anos, a disponibilidade de marcadores RAPD permitiu estudos de diversidade genética e/ou classificação de cultivares de diversas espécies (Martinello et al, 2003; Silva et al., 2011; Costa et al., 2011).

Para aprimorar o processo de caracterização e ao mesmo tempo, fornecer informações genéticas úteis ao programa de melhoramento do cajueiro será fundamental o uso de técnicas com marcadores moleculares. Neste sentido, objetivo do presente trabalho foi avaliar a diversidade genética entre cajueiros (*Anacardium occidentale* L.) utilizados comercialmente por meio de marcadores RAPD.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram avaliados oito clones de cajueiro (BRS-189, CCP-76, CCP-1001, CCP-09, CCP-06, Embrapa-50, END-189 e Embrapa-51), oriundos do programa de melhoramento e do Banco de germoplasma da Embrapa Agroindústria Tropical (Embrapa-CNPAT), localizado em Pacajus, CE (4°10'35"S e 38°28'19"W) (Tabela 1).

Tabela 1: Características de clones comerciais de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) oriundos da Embrapa-CNPAT.

Clone	Origem	Cor do pedúnculo	Indicações de uso*
BRS-189	CNPAT/EMBRAPA ¹	Laranja	Pedúnculo para mesa
CCP-76	CNPAT/EMBRAPA	Laranja	Pedúnculo para mesa
CCP-1001	CNPAT/EMBRAPA	Laranja	Exploração da castanha
CCP-09	CNPAT/EMBRAPA	Laranja	Pedúnculo para mesa e indústria da castanha
CCP-06	CNPAT/EMBRAPA	Amarelo	Fornecer sementes para porta-enxertos
Embrapa-50	CNPAT/EMBRAPA	Vermelho-claro	Exploração da castanha
END-189	CNPAT/EMBRAPA	Amarelo	Pedúnculo para mesa
Embrapa-51	CNPAT/EMBRAPA	Vermelho	Exploração da castanha

* Informações extraídas de Barros et al. (2008); 1 - Banco de germoplasma da Embrapa Agroindústria Tropical.

Folhas jovens coletadas e utilizadas na extração de DNA segundo descrito por Doyle e Doyle (1991) e a quantificação do DNA foi realizada com auxílio de biofotômetro. Cada reação PCR constou de 50 ng de DNA, tampão PCR (Gibco®) 1X; MgCl₂ 1,5 mM; dNTP 0,2 mM; 2,0 U Taq DNA polimerase (Gibco®), 0,3 ng de iniciador; água ultrapura q.s.p. 20 µL. Os DNAs foram amplificados utilizando termociclador (Eppendorf®, modelo Mastercycle com gradiente de temperatura) e submetidos a um ciclo de 94°C por um minuto; 92°C por um minuto; 35°C por um minuto; 92° por um minuto; 35°C por um minuto; 72°C por dois minutos; 40 vezes (92°C por um minuto; 35°C por um minuto; 92° por um minuto; 35°C por um minuto; 72°C por dois minutos) e, finalmente, um ciclo de 72°C por cinco minutos (Silva e Martins, 2006).

Foram avaliados 15 iniciadores de síntese de 10 pares de base da *University of British Columbia* (UBC, Reino Unido). Em cada tubo contendo 20µL do DNA amplificado foram adicionados 3µL de tampão de amostra (azul de bromofenol 0,01%; glicerol 40%). Dessa mistura, 10µL foram colocados nas canaletas de gel de agarose 1,5% (dissolvida em TBE 1X – TRIS 89mM, ácido bórico 89nM, EDTA 2,5mM, pH 8,3) e submetidos à eletroforese horizontal, em tensão de 100V por 90 minutos. A coloração foi feita usando brometo de etídio na concentração de 5µL 100mL⁻¹ de gel, e de 10µL mL⁻¹ no tampão de eletrodo (TBE 1X). A visualização dos resultados, após a eletroforese, foi realizada em equipamento Gel-doc 1000 Bio Rad (Bio-Rad Laboratories SA, EUA) de fotodocumentação para as análises posteriores.

A análise dos marcadores resultou em uma matriz binária, com o número 1 significando presença de banda e o número 0, ausência de banda. Com o número de fragmentos foi calculado a porcentagem de polimorfismo. Foram realizadas também a estimativa da similaridade empregando o coeficiente de Jaccard (1908). Para agrupar os genótipos com base na similaridade genética, foi empregado o método UPGMA (*Unweigh Pair-Group Method Arithmetic Average*). Foram efetuadas amostras *bootstrap* com o mesmo tamanho da amostra original, com 10.000 re-amostragens. Para tais análises foi utilizado o programa FreeTree (Pavlicek et al., 1999) e para geração do dendrograma foi utilizado o TreeView (Page, 1996). Também foi realizado o agrupamento das amostras considerando o método de Análise de Coordenadas Principais (ACoP) com auxílio do software XLSTAT (Addinsolft, 2009) utilizando como base a estimativa de similaridade de Jaccard (1908). Os erros associados às similaridades foram estimados segundo a fórmula de Skroch et al. (1992).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos 15 iniciadores foi possível obter perfis eletroforéticos de qualidade e que permitissem boa visualização das bandas (Figura 1).

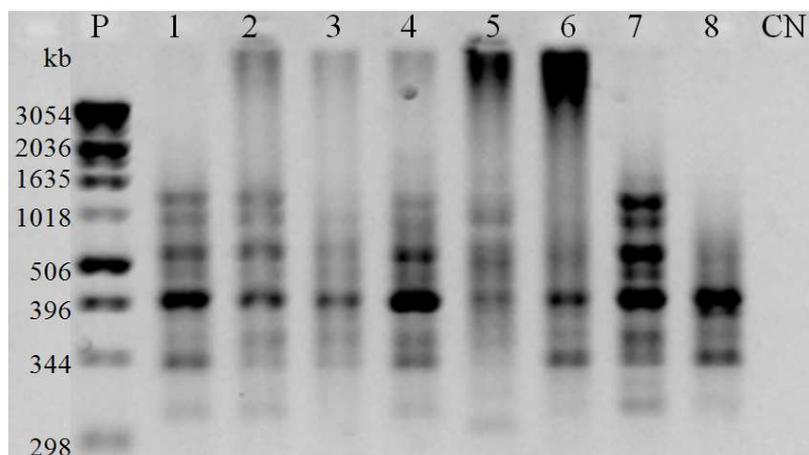


Figura 1: Padrões de fragmentos de DNA amplificados por RAPD, utilizando o iniciador UBC 341 em cajueiros comerciais (*Anacardium occidentale* L.). P- marcador de peso molecular; 1- BRS-189; 2: CCP-76; 3- CCP-1001; 4- CCP-09; 5- CCP-06; 6- Embrapa-50; 7- END-189; 8- Embrapa-51; CN- controle negativo.

Para alguns iniciadores não se obteve amplificação de todas as amostras (UBC 302, UBC 303, UBC 309, UBC 315 e UBC 342). Com a utilização de quinze iniciadores houve geração de 180 bandas, sendo 174 polimórficas (96,7% de polimorfismo) (Tabela 2). Cada iniciador gerou de seis (UBC 317) a 24 (UBC 321) bandas, ficando evidente na maioria dos casos, o alto polimorfismo existente entre os diferentes tipos de cajueiro, estando de acordo com os dados observada com base em caracteres morfológicos e agrônômicos (Paiva et al., 2007).

Tabela 2: Sequencia dos iniciadores e número de fragmentos polimórficos (NFP) entre cajueiros comerciais de (*Anacardium occidentale* L.) a partir da técnica RAPD.

Iniciador	Seqüência 5' – 3'	NFP
UBC 301	CGG TGG CGA A	9
UBC 304	AGT CCT CGC C	9
UBC 305	GCT GGT ACC C	12
UBC 308	AGC GGC TAG G	10
UBC 313	ACG GCA GTG G	13
UBC 317	CTA GGG GCT G	6
UBC 318	CGG AGA GCG A	9
UBC 319	GTG GCC GCG C	16
UBC 320	CCG GCA TAG A	16
UBC 321	ATC TAG GGA C	24
UBC 322	GCC GCT ACT A	16
UBC 324	ACA GGG AAC G	13
UBC 338	CTG TGG CGG T	10
UBC 339	CTC ACT TGG G	10
UBC 341	CTG GGG CCG T	7
TOTAL		174

A partir das estimativas de similaridade com base no índice de Jaccard (1908), observou-se variação entre 0,09 [(±0,02) CCP-06 e Embrapa-51] a 0,46 [(±0,04) BRS-189 e CCP-76], com uma similaridade média de 0,29 (±0,03) (Tabela 3).

Tabela 3: Similaridade genética (abaixo da diagonal) e erro estimado (acima da diagonal) entre cajueiros comerciais (*Anacardium occidentale* L.) baseada no coeficiente de Jaccard a partir da técnica RAPD.

	BRS-189	CCP-76	CCP-1001	CCP-09	CCP-06	Embrapa-50	END-189	Embrapa-51
BRS-189	-	0,04	0,04	0,03	0,03	0,04	0,04	0,03
CCP-76	0,46	-	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03
CCP-1001	0,33	0,35	-	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03
CCP-09	0,28	0,31	0,29	-	0,03	0,04	0,04	0,03
CCP-06	0,30	0,37	0,21	0,29	-	0,03	0,04	0,02
Embrapa-50	0,33	0,34	0,38	0,36	0,29	-	0,04	0,03
END-189	0,33	0,34	0,27	0,33	0,33	0,42	-	0,02
Embrapa-51	0,19	0,17	0,16	0,17	0,09	0,20	0,12	-

Entre os cajueiros comerciais avaliados observou-se uma alta diferenciação genética ($0,21 \pm 0,03$) e nenhum dos pares apresentou valores de similaridade acima de 50%.

Observando o agrupamento UPGMA, permitiu identificar grupos distintos, sendo os valores *bootstraps* com alta significância entre os principais ramos formados (Figura 2).

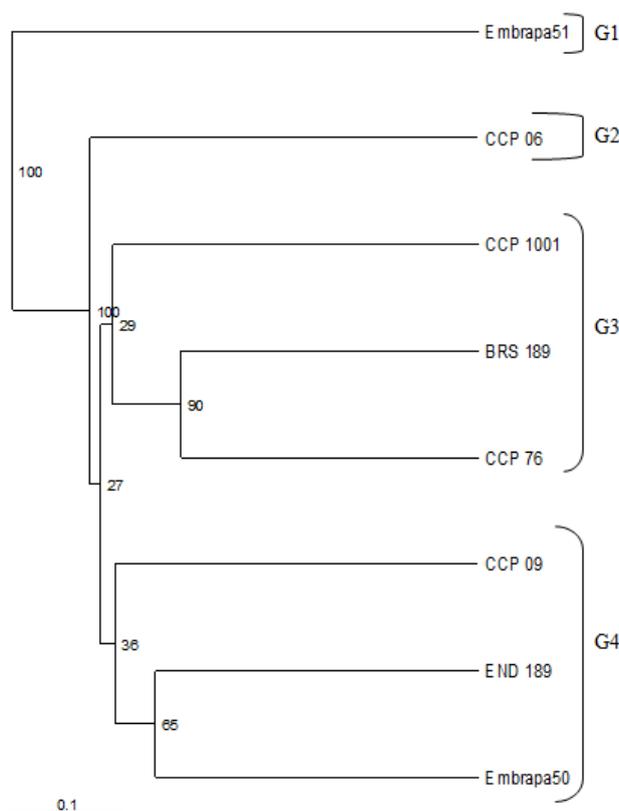


Figura 2: Agrupamento UPGMA com base na similaridade de Jaccard entre cajueiros comerciais (*Anacardium occidentale* L.) a partir da técnica RAPD.

O 'Embrapa-51' (G1) e o 'CCP-06' (G2) foram os mais divergentes no agrupamento UPGMA (Figura 2). O cajueiro do grupo G1 apresenta resistência à resinose, e à antracnose e, moderadamente, resistente ao mofo-preto, sendo sua produção em regime de sequeiro (Cardoso et al., 1999, Cardoso et al., 2007). Em virtude das características mencionadas, o 'Embrapa-51' foi recomendado para a exploração da castanha (Cardoso et al., 2007). O 'CCP-06' é o mais plantado no Brasil, tanto em regime de sequeiro como fertirrigado (Cavalcanti et al., 2000). Isso se deve à sua resistência à antracnose e ao mofo-preto.

Ainda segundo o agrupamento UPGMA, os indivíduos CCP76, BRS189 e CCP1001, apresentaram-se relacionados (G3), com coeficientes de similaridade que variam de 0,27 a 0,34. Segundo Paiva e Barros (2004) o ‘BRS-189’ foi obtido do cruzamento entre ‘CCP-76’ e ‘CCP-1001’. O ‘CCP-1001’ foi obtido por enxertia. Os três têm em comum a coloração do pedúnculo (laranja) e tiveram origem de plantas matrizes oriundas do mesmo lote (o mesmo que a ‘CCP-06’) (Barros et al., 2000), além disso o ‘CCP76’ e ‘BRS-189’ são classificados como cajueiro-anoão precoce (Paiva et al., 2000).

Por fim, o grupo G4 ficou caracterizado pelos indivíduos ‘END189’ e ‘EMBRAPA-50’ (0,42) e ‘CCP-09’ (0,35), sendo que este último apresenta relação direta com as outras variedades. Isso é bastante interessante, já que o ‘CC09’ apresenta a soma das características de produção dos outros dois indivíduos, ou seja, produção de pedúnculo (‘END-189’) e produção de castanha (‘Embrapa-50’). Nesse grupo (G4), dois indivíduos apresentaram a coloração laranja e amarela para o pedúnculo (‘CCP-06’ e ‘END-189’) e o outro vermelho-claro (‘Embrapa-50’). Há uma origem em comum para os cajueiros ‘Embrapa-50’ e ‘CCP-09’, pois em ambos utilizou-se a variedade CP 06 para a sua criação (Paiva, 2010). Mais especificamente, o ‘Embrapa-50’ é resultante de uma seleção fenotípica individual, dentro de progênies obtidas do cruzamento entre ‘CP 06’ (anoão precoce) e a planta matriz CP 07 (cajueiro comum). Já o ‘CCP-09’ teve sua origem da planta matriz de cajueiro CP 09, proveniente do mesmo lote da CP 06 (Paiva e Barros, 2004).

Com base no agrupamento ACoP (Figura 3), foi possível formar cinco grupos: o primeiro (I), formado por ‘CCP-76’, ‘BRS-189’ e ‘CCP-1001’; o segundo (II), com ‘Embrapa-50’; o terceiro (III) por ‘END-189’ e ‘CCP-06’; quarto (IV), por ‘CCP-09’ e o quinto (V), formado por ‘Embrapa-51’. Os genótipos ‘Embrapa-50’, ‘Embrapa-51’ e ‘CCP-09’ ficaram isolados. Estes indivíduos são os únicos utilizados para exploração da castanha, e ficou evidenciado seu destaque desses indivíduos entre os demais.

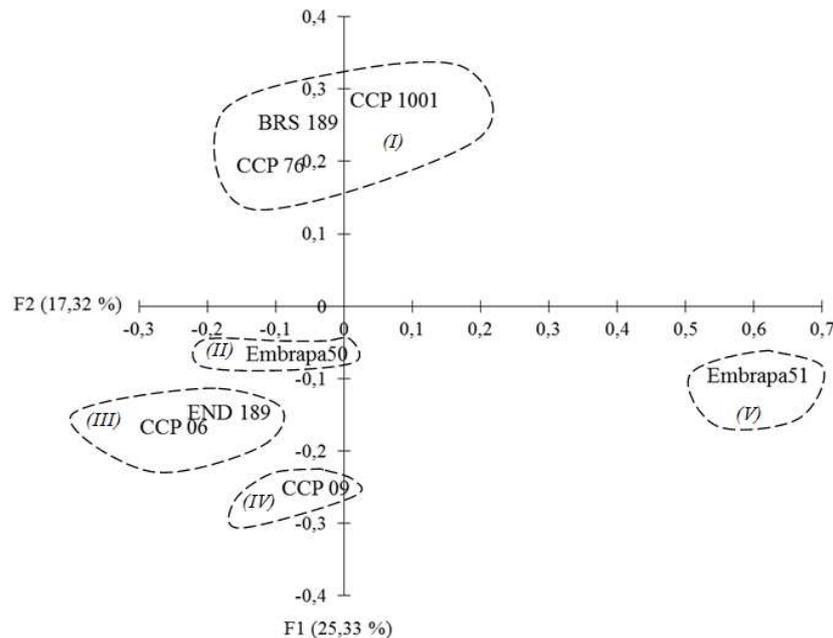


Figura 3: Análise de Componentes Principais (ACoP) com base na similaridade de Jaccard entre cajueiros comerciais (*Anacardium occidentale* L.) a partir da técnica RAPD.

Tanto por meio do método de agrupamento UPGMA, como o ACoP foi possível verificar uma aglomeração natural dos genótipos, em função da similaridade genética e morfológica, demonstrando a eficiência dos marcadores RAPD, ratificando a variabilidade genética encontrada entre os indivíduos deste estudo.

Confrontando os dois tipos de agrupamento, o ‘Embrapa-51’ foi o mais distinto, com maior diversidade genética. Esse material foi o único originado por seleção individual dentro da progênie policruzada da planta matriz P500E, também se distinguindo pela coloração do

pedúnculo, que é vermelha (Barros et al., 2008). O grupo (I) reuniu duas variedades para produção de pedúnculo (BRA 189 e CCP 79) e o ‘CCP-1001’, sendo da mesma maneira quando realizada o agrupamento UPGMA. Sugere-se que o ‘END-189’ (produção de pedúnculo) parece estar relacionado com o ‘CCP-06’ (produção de porta-enxerto) por estarem em um mesmo grupo (III); contudo apresentam baixa similaridade genética (0,30) e apresentam baixo parentesco ao observar o dendrograma.

O emprego de mais de um método de agrupamento, em razão das diferenças na hierarquização, otimização e ordenação dos grupos, permite que a classificação deles se complemente em função dos critérios que cada técnica utilize, e impede que inferências errôneas sejam adotadas na alocação de materiais, dentro de um determinado subgrupo de genótipos (Arriel et al., 2006).

Apesar da técnica de RAPD ser considerada por muitos pesquisadores como sendo de baixa reprodutibilidade de resultados, comparada às outras técnicas moleculares, quando otimizadas as condições da PCR, mostra-se eficiente no estudo da variabilidade genética (Nunes et al., 2008), pois podem ser identificados grupos similares e com isto definir base de estratégias tanto de conservação como de melhoramento. Além disso, segundo Upadhyay et al. (2004), essa técnica é mais rápida, mais simples, requer menor quantidade de DNA e tem baixos custos quando comparada a outras técnicas moleculares.

Com base nos dados obtidos neste trabalho, há a possibilidade de combinações híbridas, a partir das cultivares mais divergentes visando à formação de genótipos com produção de frutos tanto para a exploração da castanha como para pedúnculo de mesa, podendo ser mantida a mesma cor do fruto (‘CCP-1001’ x ‘BRS-189’), como também de cor diferente e com resistência a doenças como resinose, e antracnose (‘END-189’ x ‘Embrapa-51’).

Análises de genótipos potenciais para cruzamentos, como apresentado neste estudo, em nível de caracterização molecular dos recursos fitogenéticos possibilitam desenvolver culturas produtivas, com as características desejadas. Além de seu valor intrínseco, possui valor ecológico, genético, social, econômico, científico (Barbieri, 2003; Odalia-Rímoli, 2001).

4. CONCLUSÃO

A diversidade genética observada em estudos prévios, utilizando descritores morfológicos foi confirmada por análise dos marcadores RAPD. Esses resultados podem auxiliar na definição de novos genótipos a serem utilizados em programas de melhoramento da espécie de acordo com as características comerciais mais desejadas.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem Embrapa Agroindústria Tropical, pela cessão do material vegetal.

-
1. Addinsolft. *XLSTAT for Window*: <http://www.xlstat.com/>. 2009.
 2. Arriel NH, Di Mauro AO, Di Mauro SM, Bakke OA, Uneda-Trevisoli SH, Costa MM, Capeloto A, Corrado AR. Técnicas multivariadas na determinação da diversidade genética em gergelim usando marcadores RAPD. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 41(5): 801-809. 2006.
 3. Barbieri, RL. Conservação e uso de recursos genéticos vegetais. In: FREITAS, L.B. de; BERED, F. *Genética e evolução vegetal*. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2003. p. 403-413.
 4. Barros LM, Cavalcanti JJV, Paiva JR, Crisóstomo JR, Corrêa MPF, Lima AC. Seleção de clones de cajueiro anão para o plantio comercial no Estado do Ceará. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 35(11): 2197-2204, 2000.
 5. Barros LM, Paiva JR, Cavalcanti JJV. Recursos genéticos de cajueiro: situação atual e estratégias para o futuro. In: QUEIROZ, M.A.; GOEDERT, C.O.; RAMOS, S.R.R. (Eds.). *Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro*. Versão online (<http://www.cpatsa.embrapa.br/catalogo/livrorg/index.html>). Embrapa. Petrolina, Brasil. 1999.

6. Barros LM. Melhoria. *Estudos Econômicos e Sociais Fortaleza*. (35): 321-356, 1988.
7. Barros LM. Tamanho ótimo de parcela para experimento com cajueiro comum. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 13(20): 177-182, 1991.
8. Barros, LM; Cavalcanti, JJV; Paiva, JR; Crisóstomo, JR. Hibridação de caju. In: BOREM, A (Ed.). *Hibridação artificial de plantas*. 2.ed. Viçosa-MG: EDUFV, 2009. p. 214-250.
9. Barros, LM; Cavalcanti, JJV; Paiva, JR; Crisóstomo, JR; Corrêa, MPF; Lima, AC. Seleção de clones de cajueiro anão para o plantio comercial no Estado do Ceará. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.35, n.11, p.2197-2204. 2000.
10. Barros, LM; Crisóstomo, JR. Melhoria genética do cajueiro. In: ARAÚJO, JPP; SILVA, VV (Eds.). *Cajucultura: modernas técnicas de produção*. Fortaleza: Embrapa-CNPAT, 1995. p. 73-93.
11. Barros, LM; Crisóstomo, JR.; Paiva, JR; Oliveira, VH. O agronegócio do caju. In: ALBUQUERQUE, ACS; SILVA, AG (Eds.). *Agricultura Tropical: quatro décadas de inovações tecnológicas, institucionais e políticas*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 2008. v.1 p. 341-357.
12. Bretting PK, Widrelechner MP. Genetic markers and horticultural germplasm management. *HortScience*. 30(7):1349-1355, 1995.
13. Cardoso JE, Cavalcanti JJV, Cavalcante MJB, Aragão ML, Felipe EM. Genetic resistance of dwarf cashew (*Anacardium occidentale* L.) to anthracnose, black mold, and angular leaf spot. *Crop Protection*. 18(1): 23-27, 1999.
14. Cardoso JE, Viana FMP, Cysne AQ, Farias FC, Sousa RNM. Clone Embrapa 51: uma alternativa para a resistência à resinosidade-do-cajueiro. *Comunicado técnico on line*. 3pp. 2007.
15. Cavalcanti JJV, Cardoso JE, Barros LM, Felipe EM. Resistência genética de clone de cajueiro anão precoce às principais fitomoléstias. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, Brasil. 15pp.2000.
16. Costa TS; Silva AVC; Léo AS.; Santos ARF.; Silva Junior, JF. Diversidade genética de acessos do banco de germoplasma de mangaba em Sergipe. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. v.46, p 499-508, 2011.
17. Doyle JJ, Doyle JL. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 1: 13-15. 1991.
18. Ferreira ME, Grattapaglia D. Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética. MAARA/EMBRAPA/CENARGEN. Brasília, Brasil. 1995. 220 p.
19. Jaccard, P. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *De la Société Vaudoise des Sciences Naturelles*, v. 44, p. 223-270, 1908.
20. Martinello GE, Leal NR, Amaral Junior AT, Pereira MG, Daher RF. Diversidade genética em quiabeiro baseada em marcadores RAPD. *Horticultura Brasileira*. 21(1): 20-25, 2003.
21. Mitchell JD, Mori AS. The cashew and its relatives (*Anacardium*: Anacardiaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden*. 42:1-76. 1987.
22. Mohan KVJ, Bhagavan S, Kumaran PM. Classification of cashew (*Anacardium occidentale* L.) accessions in germoplasm using score method. *Turrialba*. 37 (4): 369-373, 1987.
23. Nunes AM, Biachi VJ, Fachinello JC, Carvalho AZ, Cardoso G. Caracterização molecular de butiazeiro por marcadores RAPD. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 30(3): 702-707, 2008.
24. Odalia-Rímoli, A; Arruda, EJ; Rímoli, J; Bueno NR; Costa, RB. Biodiversidade, Biotecnologia e Conservação Genética em Desenvolvimento Local. *Revista Internacional de Desenvolvimento Local*. v. 1, n. 1, p. 21-30, set. 2000.
25. Page RDM. TreeView: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences*. 12: 357-358, 1996.
26. Paiva JR (2010) *Clones de Cajueiro-anão-precoce*. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, Brasil. 2p.
27. Paiva JR, Barros LM. *Clone de cajueiro: obtenção, características e perspectivas*. Documentos n.82. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, Brasil.26p. 2004.
28. Paiva JR, Cavalcanti JJV, Barros LM. Seleção de clones de cajueiro comum pelo método em tandem e índice de classificação. *Ciência e Agrotecnologia*. 31: 765-772, 2007.
29. Paiva, FFA; Garrutti, DS; Silva Neto, RM. *Aproveitamento industrial do caju*. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2000. 85p.
30. Pavlicek A, Hrda S, Flegr J. Freeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap/jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of the genus *Frenkelia*. *Folia Biologica*. 45: 97-99, 1999.
31. Silva AVC, Martins ABG. Identificação de marcas moleculares associadas à ausência de sementes em videira. *Ciência Rural*. 36 (3): 801-806, 2006.
32. Silva AVC, Santos ARF, Wickert E, Silva Júnior JF, Costa TS. Divergência genética entre acessos de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, Recife, v.6, n.4, p.572-578, 2011.

33. Skroch PW, Tivang J, Nienhuis J. Analysis of genetic relationship using RAPD marker data. In: IUFRO INTERNATIONAL CONFERENCE: "Breeding tropical trees" Section 202-08. Cali, Colombia. Proceedings... Cali: 1992. p. 26-30, 1992.
34. Upadhyay A, Jayadev K, Manimekalai R, Parthasarathy VA. Genetic relationship and diversity in Indian coconut accessions based on RAPD markers. *Scientia Horticulturae*. 99:353-362, 2004.
35. Williams JG, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*. 18: 6531-6535, 1990.