



DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE PROGÊNIES DE MEIO-IRMÃOS DE CAJUEIRO ANÃO PRECOCE UTILIZANDO MARCADORES ISSR

José Itamar Frota Júnior¹, Eveline Nogueira Lima², Maria Emília Bezerra de Araújo³, Ingrid Bernardo de Lima⁴.

¹ Doutor em Biotecnologia/ Professor assistente III, Centro Universitário Estácio/FIC, Fortaleza, Brasil. E-mail: itamarfrota@yahoo.com.br

² Doutoranda em Agronomia/Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil

³ Mestranda em Agronomia/ Engenharia Agrícola, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil

⁴ Doutoranda em Agronomia/Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil

Recebido em: 12/04/2014 – Aprovado em: 27/05/2014 – Publicado em: 01/07/2014

RESUMO

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de caracterizar e avaliar a diversidade genética de progênies de cajueiro anão precoce da Embrapa Agroindústria Tropical por meio de marcadores moleculares, assim como, a indicação dos materiais divergentes para o programa de melhoramento genético. Foram utilizadas 50 progênies de cajueiro anão precoce instaladas no Campo Experimental de Pacajus, CE. Cada progênie foi amostrada coletando-se folhas de duas plantas por parcela e analisadas no laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Agroindústria Tropical. Foram realizadas extrações de DNA baseadas no método CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) e utilizados marcadores ISSR (Inter Simple Sequence Repeat). Utilizou-se o coeficiente de Jaccard e análise de agrupamento UPGMA (Método de Média Aritmética Não Ponderado) para análise dos grupos. Doze iniciadores ISSR geraram 71 bandas das quais 27 foram polimórficas. A análise de agrupamento permitiu a divisão em 14 grupos de similaridade genética, onde as progênies mais divergentes foram CNPAT 92-56, CNPAT 92-62 e CNPAT 92-385 e as mais similares foram CNPAT 92-331 e CNPAT 92-335.

PALAVRAS-CHAVE: Melhoramento genético, polimorfismo, DNA

GENETIC DIVERGENCE BETWEEN DIFFERENT HALF-BROTHERS DWARF CASHEW USING ISSR

ABSTRACT

The present work was developed in order to characterize and evaluate the genetic diversity of dwarf cashew progenies from Embrapa Agroindústria Tropical using molecular markers, as well, as the indicated of divergent materials to the breeding program. It was used 50 dwarf cashew progenies installed at the Experimental Center of Pacajus, CE. Each progeny was sampled by collection leaves from two plants per plot and then analyzed at Embrapa's molecular biology lab. It was performed DNA'S extractions based on CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide) and used markers ISSR (Inter Simple Sequence Repeat). Were used Jaccard's

coefficient and UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) for group analysis. Twelve ISSR primers generated 71 bands of which 27 were polymorphic. Cluster analysis allowed the division into fourteen groups of genetic similarity being the most divergent progenies CNPAT 92-56, CNPAT 92-62 and CNPAT 92-385, and the most similar ones CNPAT 92-331 and CNPAT 92-335.

KEYWORDS: Genetic improvement, polymorphism, DNA

INTRODUÇÃO

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é uma planta típica do nordeste brasileiro, região onde o seu cultivo e sua importância socioeconômica têm aumentado consideravelmente nos últimos anos (SANCHO et al., 2010). No Brasil, a exploração econômica do cajueiro tanto para produção de castanha como para consumo do pseudofruto *in natura* concentra-se na região Nordeste, que é responsável por 94% da produção, principalmente nos Estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte. Contudo, a cajucultura expandiu-se significativamente para os Estados de São Paulo, Mato Grosso, Maranhão e Bahia a partir década de 90 (BARROS et al., 2009).

O Estado do Ceará, com 53% de área plantada, destina a sua produção principalmente para obtenção da amêndoa, destacando-se como maior produtor nacional, com 111.718 toneladas em 2011, com valor de produção de cerca de R\$ 144 milhões (IBGE, 2012).

Segundo OLIVEIRA et al., (2013), área cultivada no mundo entre os anos de 2006/2010 foi de 4,63 milhões de hectares, com uma produção média de 3,75 milhões de toneladas. De acordo com a FAO (2013), o Vietnã, Nigéria, Índia, Costa do Marfim e Brasil são os principais países produtores, respondendo juntos por cerca de 85% da produção mundial. Em 2011, os maiores rendimentos dentre os países citados foram do Vietnã e Nigéria, com 3.839,4 e 2.463,7 kg.ha⁻¹. No entanto, os menores rendimentos foram obtidos pela Costa do Marfim e Brasil, com 517,7 e 301,9 kg ha⁻¹, respectivamente.

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

Devido à necessidade de se modernizar o segmento da produção agrícola, para obtenção de resultados promissores tem-se estimulado o uso de clones superiores (NASCIMENTO, 2010). A divergência genética entre grupos de genitores tem sido avaliada com o objetivo de identificar genótipos mais divergentes que possibilitem explorar um maior efeito heterótico, de tal forma que em suas gerações segregantes, apresente maior possibilidade de recuperação de genótipos superiores (CRUZ & REGAZZI, 1997).

A caracterização molecular de diversidade genética no germoplasma pode fornecer dados para auxiliar o melhorista na seleção dos genitores de populações básicas ao estabelecer programas de melhoramento. Tais populações são estabelecidas pelo cruzamento de materiais superiores, objetivando-se, frequentemente, a maximização da distância genética com a finalidade de recombinar genes ou complexos gênicos em novas combinações gênicas favoráveis (FERREIRA & GRATAPAGLIA, 1998; BATISTA, 2013).

Os marcadores moleculares são ferramentas eficazes no estudo dos genomas, pois detectam polimorfismos diretamente no DNA, não sofrem influência ambiental e são

independentes do estágio de desenvolvimento da planta (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 2008).

A “inter simple sequence repeat” (ISSR) é uma técnica alternativa para estudar polimorfismos baseados em microssatélites por meio dos genomas (SILVA et al., 2011). De acordo com GUIMARÃES et al. (2009), os marcadores moleculares ISSR são primers desenhado com base em sequências repetidas dos microssatélites na extremidade 5', acrescentando-se alguns nucleotídeos na extremidade 3'. Assim, os primers anelam-se dentro das repetições e amplificam as regiões genômicas entre os SSRs, cujos tamanhos dos fragmentos são limitados pela própria técnica da polymerase chain reaction (PCR). Segundo ISSHIKI et al. (2008), o marcador molecular ISSR tem se mostrado uma poderosa ferramenta para análise da diversidade genética, bem como para a caracterização de acessos e cultivares de diversas espécies.

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

Este estudo tem como objetivo caracterizar e avaliar a diversidade genética de progênies de cajueiro selecionados pela da Embrapa Agroindústria Tropical por meio de marcadores moleculares ISSR, bem como a indicação dos materiais promissores para o Programa de Melhoramento Genético da Embrapa.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização desse trabalho foram utilizadas 50 progênies de meio-irmãos de cajueiro anão precoce. Todas as progênies encontram-se no Campo Experimental de Pacajus da Embrapa Agroindústria Tropical, que está localizado na cidade de Pacajus (CE), a 50 km de Fortaleza, em uma região de transição entre o litoral leste e o semiárido, com latitude 4°11'26,62" S e longitude 38°29'50,78". Estrada Pacajus-Itaipaba, km 05, Zona Rural. O município apresenta tipo climático Aw, conforme classificação de Köppen, com temperatura média anual de cerca de 26°C. O experimento possuiu 600 plantas oriundas do Estado do Piauí (Fazenda Capisa – Pio IX) e (Fazenda Itauera – Canto do Buriti) (Tabela 1). Para esse trabalho não foi considerado delineamento experimental.

TABELA 1. Progênies instaladas no campo experimental da Embrapa em Pacajus-CE

Identificação (dendrograma)	Progênie Tratamento	Origem	Identificação (dendrograma)	Progênie Tratamento	Origem
01	CNPAT 92-01	Fazenda Capisa	26	CNPAT 92-312	Fazenda Capisa
02	CNPAT 92-05	Fazenda Capisa	27	CNPAT 92-314	Fazenda Capisa
03	CNPAT 92-10	Fazenda Capisa	28	CNPAT 92-322	Fazenda Capisa
04	CNPAT 92-11	Fazenda Capisa	29	CNPAT 92-323	Fazenda Capisa
05	CNPAT 92-20	Fazenda Capisa	30	CNPAT 92-327	Fazenda Capisa

06	CNPAT 92-26	Fazenda Capisa	31	CNPAT 92-329	Fazenda Capisa
07	CNPAT 92-27	Fazenda Capisa	32	CNPAT 92-330	Fazenda Capisa
08	CNPAT 92-30	Fazenda Capisa	33	CNPAT 92-331	Fazenda Capisa
09	Progênie CP 06	Progênie CP 06	34	CNPAT 92-333	Fazenda Capisa
10	CNPAT 92-40	Fazenda Capisa	35	CNPAT 92-335	Fazenda Capisa
11	CNPAT92-45	Fazenda Capisa	36	CNPAT 92-337	Fazenda Capisa
12	CNPAT 92-46	Fazenda Capisa	37	CNPAT 92-338	Fazenda Capisa
13	CNPAT 92-50	Fazenda Capisa	38	CNPAT 92-339	Fazenda Capisa
14	CNPAT 92-52	Fazenda Capisa	39	CNPAT 92-342	Fazenda Capisa
15	CNPAT 92-54	Fazenda Capisa	40	CNPAT 92-343	Fazenda Capisa
16	CNPAT 92-56	Fazenda Capisa	41	Progênie CP 06	Progênie CP 06
17	CNPAT 92-58	Fazenda Capisa	42	CNPAT 92-346	Fazenda Capisa
18	CNPAT 92-62	Fazenda Capisa	43	CNPAT 92-347	Fazenda Capisa
19	CNPAT 92-67	Fazenda Capisa	44	CNPAT 92-353	Fazenda Capisa
20	CNPAT 92-71	Fazenda Capisa	45	CNPAT 92-354	Fazenda Capisa
21	CNPAT 92-73	Fazenda Capisa	46	CNPAT 92-371	Fazenda Capisa
22	CNPAT 92-76	Fazenda Itaueira	47	CNPAT 92-377	Fazenda Capisa
23	CNPAT 92-83	Fazenda Itaueira	48	CNPAT 92-378	Fazenda Capisa
24	CNPAT 92-88	Fazenda Itaueira	49	CNPAT 92-382	Fazenda Capisa
25	CNPAT 92-92	Fazenda Itaueira	50	CNPAT 92-385	Fazenda Capisa

Fonte: EMBRAPA (1993).

Para a realização da extração de DNA, foram coletadas folhas jovens e sadias, de cajueiros na fase vegetativa, para assegurar uma melhor qualidade do DNA extraído e evitar contaminações com organismos epifíticos ou endofíticos. As folhas foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas resfriadas durante o transporte, em caixa de isopor com gelo, até o Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Agroindústria Tropical, onde foram mantidas congeladas à temperatura de -20 °C até o início das extrações de DNA.

As extrações de DNA foram baseadas no método CTAB ajustado por

CAVALCANTI & WILKINSON (2007), para *Anacardium occidentale* L. Após as extrações, a qualidade do DNA extraído foi verificada em gel de agarose 1% e a quantificação foi realizada em espectrofotômetro NanoDrop 2000. Após a quantificação da concentração de ácidos nucleicos extraídos, as amostras de DNA foram diluídas para a concentração de 10 ng/μL e armazenadas em freezer a -20 °C.

Foram realizados testes preliminares de amplificação com 26 iniciadores ISSR da marca IDT (Integrated DNA Technologies): 802, 807, 809, 810, 811, 812, 813, 815, 817, 819, 823, 827, 830, 836, 841, 842, 850, 852, 855, 856 858, 860, 861, 866, 878 e 880. Utilizando quatro genótipos selecionados ao acaso, foram escolhidos 12 iniciadores que apresentaram os melhores resultados quanto à amplificação em termos de quantidade e nitidez de bandas. A partir dos resultados obtidos, esses iniciadores foram selecionados para participar da caracterização das progênies de cajueiro. As reações de amplificação foram realizadas em dois termocicladores, sendo um do modelo TC 512 e o outro FLEXIGENE, ambos da TECHNE. As reações foram preparadas isoladamente.

As condições de reação foram testadas de forma a otimizar as amplificações para cada um dos 12 iniciadores anteriormente escolhidos. Foram testados vários componentes de PCR: diferentes concentrações de MgCl₂ (1,0 mM, 1,5 mM ou 2,0 mM), presença e ausência de BSA (10 μg) e diferentes marcas de Taq DNA Polimerase (DNA Polimerase ou DNA Polimerase Platinum). Os padrões de fragmentos que cada iniciador produziu, em cada combinação de fatores, foram avaliados visualmente, tendo-se observado a reprodutibilidade e a intensidade dos fragmentos e a presença de polimorfismo.

As reações de amplificação compreenderam um volume final de 25 μL compostas por 2,5 μL de tampão de reação 10x, 1,0 μL de MgCl₂ (2,0 mM), 0,5 μL de dNTPs (0,2Mm), 2 μL de DNA (5ng/μL), 2 μL de cada iniciador (0,8 mM), 0,2 μL de Taq DNA Polymerase (5unid/0,1μL) e água miliQ (16,8 μL) para completar o volume de reação.

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

As reações foram preparadas isoladamente e os produtos da amplificação (bandas) foram visualizados através de eletroforese em gel de agarose 1,8% em TBE (90 mM Tris-ácido bórico/1 mM EDTA), corado com brometo de etídio (0,5μg/μL) e submetidos a 110 volts por aproximadamente duas horas e meia. Posteriormente os géis foram visualizados sob luz UV e fotografados em fotodocumentador digital Canon PowerShot A620 . A partir dos dados, foi construída uma matriz de similaridade genética, utilizando o coeficiente de Jaccard (J), calculado de acordo com a fórmula: $IAB = A / (A+B+C)$, onde A é a presença da mesma banda em ambos os indivíduos, B é a presença da banda no indivíduo 1 e ausência no indivíduo 2, e C é ausência da banda no indivíduo 1 e presença no indivíduo 2. Para a construção do dendrograma, foi utilizado o método de agrupamento UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average). Para todas as análises estatísticas foi utilizado o programa computacional Genes (CRUZ, 2006).

A determinação dos valores de cada marcador na detecção de polimorfismo entre as 50 progênies de cajueiro analisadas foi realizada através do conteúdo de informação polimórfica (PIC-*polymorphism information content*) segundo ANDERSON et al., (1993), calculado em função do número e alelos detectados, da sua distribuição e frequência na população estudada. Os valores de PIC para cada iniciador ISSR foram determinados pela seguinte expressão: $PIC_i = 1 \sum_{j=1}^n P_{ij}^2$.

Nesta expressão P_{ij} é a frequência do alelo "j" no marcador "i", a soma se estende

por todos (n) os alelos. O cálculo foi baseado no número de alelos detectados por marcador para um determinado loco, ou seja, “0” para ausência de alelo, “1” para presença do alelo e pela frequência relativa de cada alelo no conjunto das 49 progênies analisadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos dados com os 12 iniciadores selecionados (Tabela 2) revelou variação no número de fragmentos amplificados totalizando 71 bandas (fragmentos de DNA). A Tabela 2 mostra o número de bandas geradas, bandas polimórficas e o PIC médio.

TABELA 2. Sequência do iniciador, bandas geradas e polimórficas dos 12 iniciadores ISSR utilizadas na caracterização das progênies de cajueiro.

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

Foi possível identificar 27 bandas polimórficas (fragmentos polimórficos). LONDE et al. (2010), estudando a divergência genética entre populações de *Anacardium humile* St. Hill. (cajuzinho do cerrado) por meio de marcadores AFLP, observou que de acordo com o método DOYLE & DOYLE (1987), houve amplificação do DNA onde foram geradas 118 bandas polimórficas e 242 bandas monomórficas nas 16 combinações de *primers* testados, o número de marcadores polimórficos por iniciador variou de 1 a 4 (iniciador 825). Na Figura 1, o padrão de amplificação obtido pelo ISSR 825.

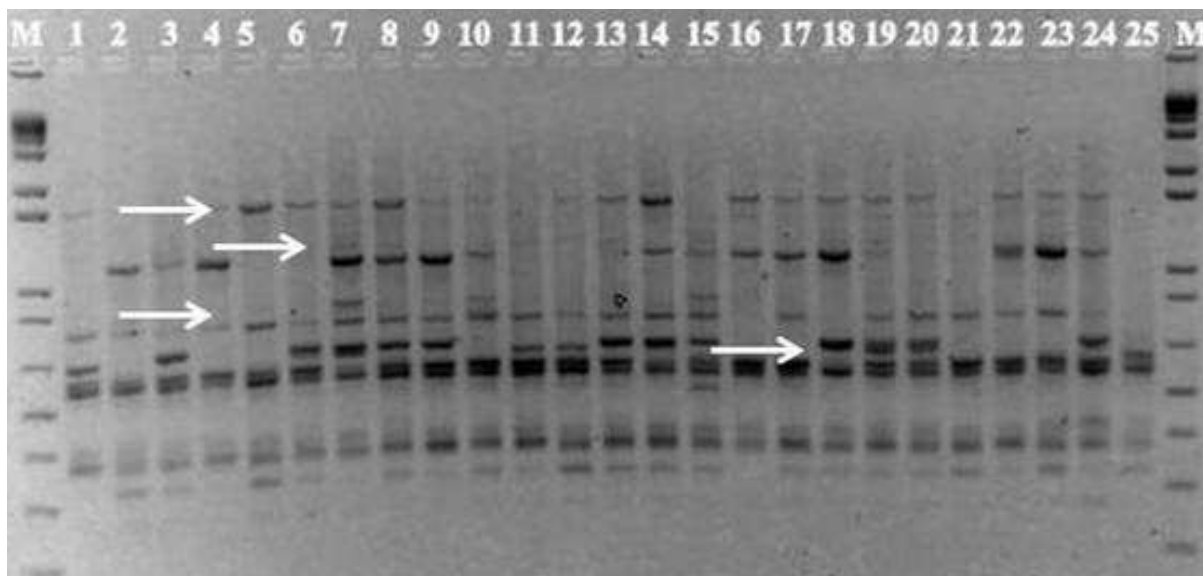


FIGURA 1. Padrão de amplificação de vinte e cinco progênes de cajueiro utilizando o ISSR 825. Linhas laterais correspondem ao marcador de 1Kb e linhas de 1 a 25 correspondem às progênes de cajueiro. Setas indicam marcadores polimórficos

De acordo com BOTSTEIN et al., (1980), o conteúdo de informação polimórfica (PIC) é um indicador da qualidade do marcador. Segundo estes mesmos autores marcadores com valores de PIC superiores a 0,5 são considerados muito informativos, valores entre 0,25 e 0,5 medianamente informativo e valores inferiores a 0,25 pouco informativos. BRANDÃO (2012) estudando a diversidade genética em *Ceiba pubiflora* (Malvaceae) utilizando marcadores ISSR, encontrou PIC com valores médios de 0,369, o que indica que os marcadores utilizados podem ser considerados medianamente informativos. No presente trabalho os valores encontrados variaram de 0,43 a 0,91 com uma média de 0,70, ou seja, marcadores utilizados considerados muito informativos.

MALONE et al., (2007), comentam que o PIC está relacionado com o número de alelos, que por sua vez, está diretamente associado à divergência genética e ao número de genótipos em estudo. O dendrograma de agrupamento das 50 progênes obtido pelo método UPGMA é apresentado na Figura 2. Uma linha de corte horizontal é traçada a uma distância de ligação em torno de 75% no agrupamento hierárquico das progênes.

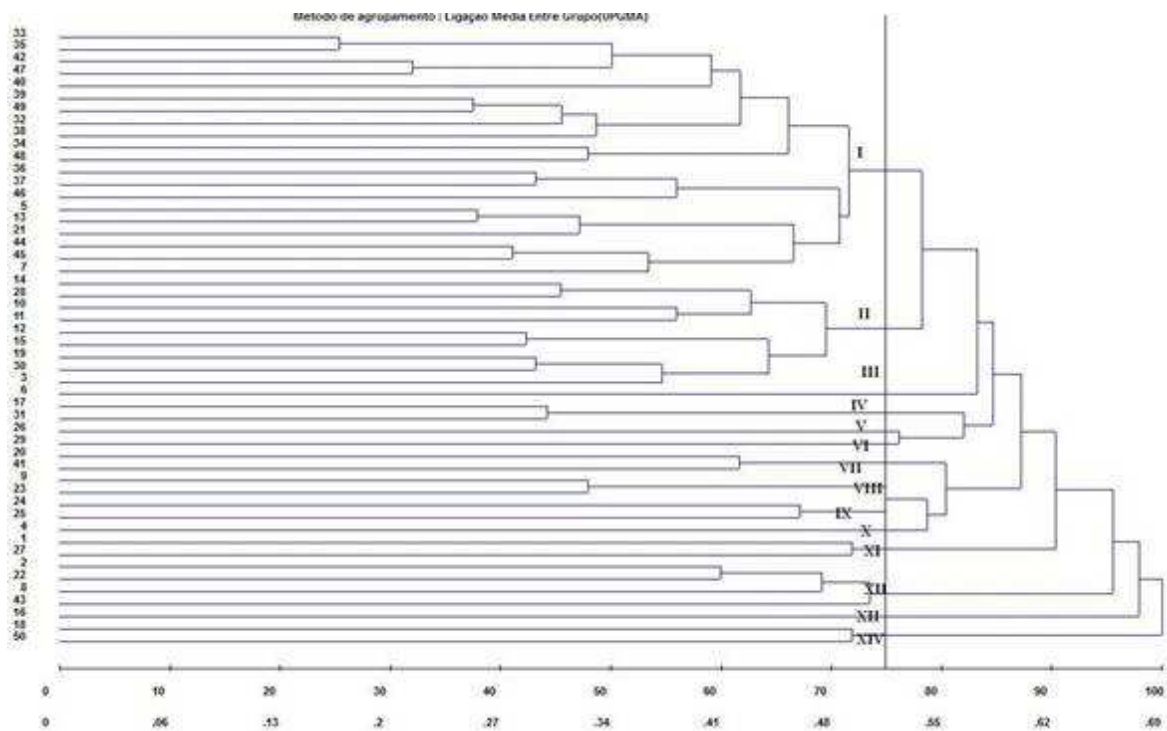


FIGURA 2. Dendrograma obtido a partir da amplificação de doze iniciadores ISSR para 50 progênies de cajueiro anão precoce. Linha horizontal corresponde ao ponto de corte que foi obtido a partir da média da matriz de distâncias genéticas formando 14 grupos. Números de I a XIV corresponde aos grupos formados

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

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

Pode-se constatar que as progênies do grupo I, especialmente as do subgrupo I são as mais similares (Figura 2), e são composta pelas progênies CNPAT 92-331 (33) e CNPAT 92-335 (35), que possuem aproximadamente 75% de similaridade. Ambas são oriundas do mesmo campo de coleta no município de Pio IX no Piauí (Fazenda Capisa), o que pode justificar esta similaridade.

Ainda no grupo I, em ambos os subgrupos, verificou-se que houve a presença maciça de materiais procedentes do mesmo local e campo de coleta, onde as progênies CNPAT 92-342 (39), CNPAT 92-343 (40) do subgrupo I e CNPAT 92-337 (36), CNPAT 92-338 (37) do subgrupo II, são procedentes da Fazenda Capisa, assim como as progênies CNPAT 92-353 (44) e CNPAT 92-354 (45), que ficaram localadas no subgrupo II (Tabela 3).

TABELA 3. Grupos e subgrupos obtidos a partir da amplificação de 12 iniciadores ISSR para cinquenta progênies de cajueiro anão precoce.

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

Embora o experimento seja composto em sua maior parte de materiais procedentes do município de Pio IX, no dendrograma (Figura 2), observa-se que houve tendência de aglomeração dos materiais oriundos de Canto do Buriti (PI), haja vista que das quatro progênies utilizadas neste experimento, duas delas, as

progênies CNPAT 92-88 (24) e CNPAT 92-92 (25) ficaram distribuídas no mesmo grupo (Grupo IX) e uma, a CNPAT 92-83 (23) ficou locada no grupo VIII. No entanto, a CNPAT 92-76 (22) também procedente do mesmo local, ficou no grupo XII, que pode ser explicado pelo fato do cajueiro ser uma planta alógama (Tabela 3). PESSONI (2007), estudando a diversidade genética de *Anacardium* spp, a partir de acessos mantidos pelo Banco Ativo de Germoplasma do Cajueiro (BAG – Embrapa CNPAT), observou que embora não tenha ocorrido uma separação clara dos acessos segundo a origem ou espécie, foi percebida uma tendência ao agrupamento dos acessos de algumas populações, a maior parte dos acessos do Nordeste, se concentrou em dois subgrupos distintos, assim como os acessos da Índia. Os acessos de Anão Precoce formaram apenas um grupo principal.

CONCLUSÕES

Há variabilidade genética na população em estudo que pode ser explorada no programa de melhoramento genético através da seleção de genitores para formar combinações híbridas desejáveis para a obtenção de genótipos superiores. As progênies CNPAT 92-56 (16), CNPAT 92-30 (08) e CNPAT 92-385 são as mais divergentes, enquanto as mais similares são CNPAT 92-331 (33) e CNPAT 92-335 (35) oriundas do grupo I subgrupo I. O iniciador mais informativo foi o ISSR 825 por apresentar maior número de bandas polimórficas.

AGRADECIMENTOS

À EMBRAPA por ceder as suas instalações, assim como disponibilizar materiais e reagentes para esse trabalho.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, J.A.; CHURCHILL, G.A.; AUTRIQUE, J.E.; TANKSLEY, S.D.; SORRELLS, M.E. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. **Genome**, v.36, n.1, p.181-186, 1993.
- BARROS, L.M.; CAVALCANTI, J.J.V.; PAIVA, J.R.; CRISÓSTOMO, J.R. HIBRIDAÇÃO DE CAJU. IN: Borém a (ed.) **Hibridação artificial de plantas**. Viçosa, 2009.
- BATISTA, C.E.de. A. **Diversidade genética molecular em germoplasma de mangueira**. 2013. 104p. Tese (Doutorado em genética e melhoramento de plantas). Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura de Luiz de Queiroz. Piracicaba, SP, 2013.
- BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLMICK, H. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. **American Journal of Human Genetics**, v.32, n.3, p.314-331, 1980.
- BRANDÃO, M.M. **Diversidade genética e fitogeografia de Ceiba pubiflora (A.St,-Hil.) K.Schum. (MALVACEAE)**. 2012, 115p. Tese (Ecologia e Conservação de Recursos em Paisagens Fragmentadas e Agrossistemas). Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG. 2012
- CAVALCANTI, J.J.V.; WILKINSON, M.J. The first genetic maps of cashew (*Anacardium occidentale* L.). **Euphytica**, v.157, p.131/1-2-143, 2007.

CRUZ, C.D. **Programa GENES versão Windows: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa, 2006. 642p

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

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

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A RAPD isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v.19, n.5, p. 11-15, 1987.

EMATERCE- Empresa de Assistência Técnica de Extensão Rural do Ceará- **Implementação da cajucultura**. Disponível em: http://www.ematerce.ce.br/index.php?option=com_content&view=article&id=1616&catid=1616&Itemid=76. Acesso em 13 out. 2011.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>>. Acessado em: 06 de março de 2013. FIEC – FEDERAÇÃO DAS INDÚSTRIAS DO ESTADO DO CEARÁ. **Estudo Setorial: Castanha de Caju**. Dezembro de 2012. Disponível em: <<http://www.fiec.org.br>>. Acessado em: 30 abril 2014.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, 2008. 220p.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: Embrapa-Cenargem, 1998, 220p.

GUIMARÃES, C.T.; MAGALHÃES, J.V. de.; LANZA, M.A.; SCHUSTER, I. Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento genético. **Informe Agropecuário**, v.30, n.253, p.24-33, 2009.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção agrícola municipal 2011**. Rio de Janeiro, IBGE: 2012. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 30 abril 2014.

ISSHIKI, S.; IWATA, N.; KHAN, M.R. ISSR variations in eggplant (*Solanum melongena* L.) and related Solanum species. **Scientia Horticulturae**, v.117, p.186–190, 2008.

LONDE, L.N.; RIBEIRO, E.B.; SOUZA, C.S.; KERR, W.E.; BONETTI, A.M. Divergência genética entre populações de *Anacardium humile* St. Hill por marcadores AFLP. **Epamig, Circular Técnica**, 2010. n.105. 3p.

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

NASCIMENTO, A.H.C. **Aspectos fisiológicos e produtivos de clones de cajueiro anão precoce cultivado sob dois regimes hídricos**. 2010. 97p, Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem) - Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

OLIVEIRA, M. de. F. M. L. de.; SANTOS, P.M.P.dos.; PEDRO, H. A.E.V. **O Mercado do Caju na Guiné-Bissau: análise da cadeia de valor do Caju**. VII Congresso da APDEA, V Congresso da SPER, I Encontro Lusófono em Economia, Sociologia, Ambiente e Desenvolvimento Rural, 2013. Disponível em: http://www.esadr2013.uevora.pt/dwld/atas/ESADR2013_C06.pdf. Acessado em: 03 de maio 2014

PESSONI, L.A. **Estratégias de avaliação da diversidade em germoplasma de caju (*Anacardium spp L.*)**. 2007. 159p. Tese (Doutorado em genética e melhoramento). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2007.

SANCHO, S. D. O.; MAIA, G. A.; FIGUEIREDO, R. W. D.; RODRIGUES, S.; RABELO, M. C. Evaluation of a microbiological method for the determination of 5-methyltetrahydrofolate in cashew apple juice (*Anacardium occidentale L.*). **Food Science and Technology**, v. 30, n. 3, p. 635-640, 2010.

SILVA, K. V. P. D.; ALVES, A. A. D. C.; MARTINS, M. I. G.; MELO, C. A. F. D.; CARVALHO, R. D. Genetic variation among accessions of the genus *Manihot* by ISSR markers. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.9, p.1082-1088, 2011.