

Fortaleza, CE / Agosto, 2024



## Diversidade genética de acessos de cajueiro do Cerrado goiano

Érika Beatriz de Lima Castro<sup>(1)</sup>, Ana Cecília Ribeiro de Castro<sup>(2)</sup>, Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini<sup>(3)</sup> e Patricia do Nascimento Bordallo<sup>(4)</sup>

<sup>(1)</sup> Engenheira-agrônoma, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE. <sup>(3)</sup> Professora, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. <sup>(4)</sup> Pesquisadora, Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

**Resumo** – A caracterização dos recursos genéticos é feita com base em descritores que levam em consideração diversos aspectos da planta. Dessa forma, objetivou-se caracterizar a diversidade genética de acessos de cajueiro do Cerrado goiano por meio de dados biométricos das sementes e caracterizar um acesso com marcadores moleculares dos tipos RAPD e ISSR. A biometria foi realizada em sete acessos. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias agrupadas pelo critério de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). A contribuição dos caracteres foi realizada por meio do método de Singh. Utilizando-se a distância generalizada de Mahanalobis ( $D^2$ ), foram realizadas as análises de agrupamento pelos métodos UPGMA e Tocher. A análise por meio dos marcadores moleculares RAPD e ISSR foi realizada em apenas um dos acessos. Os resultados biométricos indicam variabilidade genética entre e dentro dos acessos de cajueiro do Cerrado. Os resultados da análise com marcadores moleculares baseados em RAPD e ISSR indicam variabilidade genética dentro do acesso BGC 676.

**Termos para indexação:** *Anacardium occidentale* L., marcadores moleculares, biometria.

## Genetic diversity of cashew tree accessions from the Goiás's Cerrado

**Abstract** – The characterization of genetic resources is based on descriptors that take into account various aspects of the plant. The aim was therefore to characterize the genetic diversity of cashew accessions from the Goiás's Cerrado using biometric data from the seeds and to characterize one access using molecular markers such as RAPD and ISSR. Biometry was carried out on seven accessions. The data was submitted to analysis of variance and the means were grouped using the Scott-Knott criterion ( $p < 0.05$ ). The contribution of the characters was calculated using Singh's method. Using the generalized Mahanalobis distance ( $D^2$ ), cluster analyses were carried out using the UPGMA and Tocher methods. Analysis with RAPD and ISSR molecular markers was carried out on only one of the accessions. The biometric results indicate genetic variability between and within the Cerrado cashew accessions. The results of the analysis with molecular markers based on

### Embrapa Agroindústria Tropical

Rua Pernambuco, 2.270, Pici  
CEP 60.511-110 Fortaleza, CE  
www.embrapa.br/agroindustria-tropical  
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

#### Comitê Local de Publicações

Presidente

José Roberto Vieira Junior

Secretária-executiva

Celli Rodrigues Muniz

Membros

Afrânio Arley Teles Montenegro,

Aline Saraiva Teixeira, Eveline de

Castro Menezes,

Francisco Nelsieudes Sombra

Oliveira, Helenira Ellery Marinho

Vasconcelos, Kirley Marques

Canuto, Laura Maria Bruno,

Marlon Vagner Valentim Martins,

Pablo Busatto Figueiredo,

Roselayne Ferro Furtado, Sandra

Maria Morais Rodrigues

Revisão de texto

José Cesamildo Cruz Magalhães

Normalização bibliográfica

Rita de Cassia Costa Cid

(CRB-3/624)

Projeto gráfico

Leandro Sousa Fazio

Diagramação

José Cesamildo Cruz Magalhães

Publicação digital: PDF

Todos os direitos reservados à Embrapa.

RAPD and ISSR indicate genetic variability within access BGC 676.

**Index terms:** *Anacardium occidentale* L., molecular markers, biometry.

## Introdução

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é uma árvore tropical (Dao et al., 2022) de origem brasileira, resistente a condições adversas, tais como períodos de seca (Jeyavishnu et al., 2021). Essa resistência possui importância socioeconômica, pois a colheita ocorre na entressafra de outras culturas, contribuindo para a geração de renda e permanência de pequenos produtores no campo, principalmente na região Nordeste (Almeida et al., 2017). O Brasil possui cerca de 427,1 mil hectares plantados com cajueiro, cuja produção de castanha é de 111.103 toneladas (IBGE, 2023), estando concentrada, principalmente, no Nordeste (Brainer; Vidal, 2021). Devido a essa importância socioeconômica, estudos realizados com o cajueiro são necessários, principalmente aqueles que objetivam caracterizar a variabilidade genética.

O Cerrado possui uma elevada diversidade genética (i.e., é responsável por 30% da flora natural do Brasil), sendo que muitas espécies, principalmente as frutíferas, possuem ampla variabilidade de cores, formatos e aromas, dentre outras características (França et al., 2019). No geral, o Cerrado pode ser subdividido em Cerrado denso, típico, ralo e rupestre. O Cerrado denso apresenta uma vegetação arbórea mais densa (cobertura de 50 - 70%) e alta (5 a 8 m) (Ribeiro; Walter, 2008). O Cerrado típico caracteriza-se por apresentar uma vegetação predominantemente arbórea-arbustiva, com cobertura de 20 a 50% e altura média de 3 a 6 m (Ribeiro; Walter, 2008). O Cerrado ralo também apresenta vegetação arbórea-arbustiva, mas com uma forma mais baixa (2 a 3 m) e menos densa (5 - 20%) (Ribeiro; Walter, 2008). O Cerrado rupestre ocorre em ambientes rochosos, apresentando uma vegetação sobre pouco solo entre afloramentos de rocha (Ribeiro; Walter, 2008). Além disso, o Cerrado também pode ser caracterizado como antropizado, em que o local corresponde a áreas nativas que foram ocupadas e a vegetação suprimida ao longo do tempo (Sousa, 2011), levando a alterações no ambiente por ação dos humanos.

O cajueiro é uma planta alógama, com alto grau de heterozigose, possuindo grande variabilidade

nas populações naturais (Paiva et al., 2003). Parte dessa variabilidade tem origem no Cerrado. Por isso, é necessário que seja feita a avaliação de materiais genéticos de cajueiros para a caracterização dessa variabilidade (Faleiro et al., 2020; Oliveira et al., 2020) e, a partir dessas informações, se possa planejar as técnicas de conservação e uso desse germoplasma (Wade et al., 2020).

A caracterização da variabilidade genética de uma espécie vegetal pode ser feita de várias formas, sendo uma delas por meio da utilização de descritores morfológicos (Carneiro et al., 2019). A biometria permite identificar a variabilidade genética dentro de uma mesma espécie (Gusmão et al., 2006).

Outra forma de se caracterizar a variabilidade genética é por meio de marcadores moleculares (Ramalho et al., 2016; Souza et al., 2019). Nesse tipo de caracterização, a diversidade genética é avaliada sem interferência do ambiente ou do fenótipo (Singh et al., 2017). Existem vários tipos de marcadores moleculares, mas para se estimar a variabilidade e a diversidade genética, os marcadores SNPs, SSRs, RAPD e ISSR podem ser úteis na avaliação de germoplasma (Paiva et al., 2019). Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar a diversidade genética de acessos de cajueiro do Cerrado goiano por meio de dados biométricos das sementes e caracterizar um acesso com marcadores moleculares do tipo RAPD e ISSR.

## Material e métodos

### Diversidade genética por meio da biometria das sementes

As sementes avaliadas fazem parte do acervo do Banco Ativo de Germoplasma de Caju (BAG Caju) da Embrapa Agroindústria Tropical, tendo sido obtidas a partir de coletas em populações nativas de cajueiro do Cerrado (oriundas do estado de Goiás) (Figura 1).

Foi realizada a biometria (comprimento, largura e espessura) (Figura 2) das sementes de sete acessos (Tabela 1). Cada árvore foi considerada um tratamento e, para diferenciar as árvores de cada acesso, estas foram identificadas pelo número da coleção do banco de germoplasma, seguida pela letra A e um número arábico (Figura 3). Para cada tratamento, foi realizada a biometria de 10 sementes, escolhidas ao acaso, por meio de um paquímetro digital.



Figura 1. Locais de coleta dos acessos de cajueiro em Goiás.

Wikimedia Commons, imagem de uso livre da Wikimedia Foundation, editada por Érika Beatriz de Lima Castro utilizando o software QGIS.



Figura 2. Variáveis avaliadas em castanhas de cajueiro do Cerrado que compõem o BAG Caju da Embrapa Agroindústria Tropical: comprimento (A), largura (C) e espessura (L).

Tabela 1. Informações associadas aos sete acessos de cajueiro do Cerrado (oriundos do estado de Goiás).

Coleção	Município	Tipo de ambiente	Número de árvores por acesso
BGC 668	Posse	Cerrado rupestre	4
BGC 669	Guarani de Goiás	Cerrado típico	5
BGC 671	Guarani de Goiás	Cerrado denso	4
BGC 672	Monte Alegre de Goiás	Pastagem	3
BGC 673	Monte Alegre de Goiás	Cerrado antropizado	3
BGC 676	Campos Belos	Cerrado antropizado	4
BGC 678	Campos Belos	Cerrado típico	4

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias agrupadas pelo critério de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). A partir do método de Singh (1981), foram quantificados os caracteres que mais contribuíram para a dissimilaridade genética entre os indivíduos avaliados. Utilizando-se a distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ ), foram realizadas as análises de agrupamento pelos métodos UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages*) e de otimização de Tocher.

O dendrograma foi construído pelo método UPGMA, e o corte realizado seguindo o critério de Mojena (1977). O coeficiente de correlação cofenética (CCC) do dendrograma foi estimado para validar o método de agrupamento. As análises estatísticas foram realizadas por meio do software Genes (Cruz, 2016).

### Diversidade genética baseada em marcadores moleculares (RAPD e ISSR)

O endosperma de sementes do acesso BGC 676 teve o seu DNA extraído utilizando-se o Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, WI, USA). Esse acesso foi escolhido devido a diferenças em aspectos quantitativos e qualitativos das sementes, principalmente cor, tamanho e formato. Foram selecionadas aleatoriamente cinco sementes de quatro árvores desse acesso (Figura 3), totalizando 20 amostras. As cinco sementes selecionadas de cada árvore foram consideradas indivíduos.

Os testes de amplificação do DNA foram inicialmente realizados com 26 *primers* RAPD e 30 *primers* ISSR. Destes, foram selecionados 10 *primers* de RAPD e 10 de ISSR que apresentaram polimorfismo. Para os *primers* RAPD, as concentrações adotadas para um volume final de 13  $\mu$ L consistiram em: tampão PCR 1X;  $MgCl_2$  2 mM; dNTP 0,2 mM; 1,0 U Taq DNA polimerase (Promega); 0,3  $\mu$ M de *primer*; 50 ng de DNA; e água ultrapura para completar o volume final. Para as reações de PCR, as amostras foram amplificadas utilizando-se o termociclador *Applied Biosystems* (modelo Veriti 96-Well Thermal Cycler) com as seguintes condições: (I) desnaturação prévia do DNA a 94 °C por 5 minutos; (II) 40 ciclos a 94 °C por 1 minuto; anelamento por 1 minuto a 35 °C; extensão por 2 minutos a 72 °C; e (III) extensão final do DNA por 2 minutos a 72 °C.

Para os *primers* ISSR, as concentrações adotadas para um volume final de 20  $\mu$ L consistiram em: tampão PCR 1X;  $MgCl_2$  2 mM; dNTP 0,2 mM; 1,0 U Taq DNA polimerase; 0,8  $\mu$ M de *primer*; 20 ng de DNA; e água ultrapura para completar o volume

final. Utilizando-se o termociclador já mencionado, as reações foram realizadas sob as seguintes condições: (I) desnaturação prévia do DNA a 94 °C por 5 minutos; (II) realização de 40 ciclos a 94 °C por 1 minuto; anelamento por 40 segundos, sob temperatura que variou entre 44 °C e 62 °C, de acordo com cada *primer*; extensão por 2 minutos a 72 °C; e (III) extensão final do DNA por 5 minutos a 72 °C.

Os produtos de ambas as reações de RAPD e ISSR foram submetidos à eletroforese horizontal, com uma tensão de 110 V por 60 minutos, utilizando-se gel de agarose 1%. A visualização de cada gel foi realizada utilizando-se fotodocumentador L-PIX Chemi (Loccus).

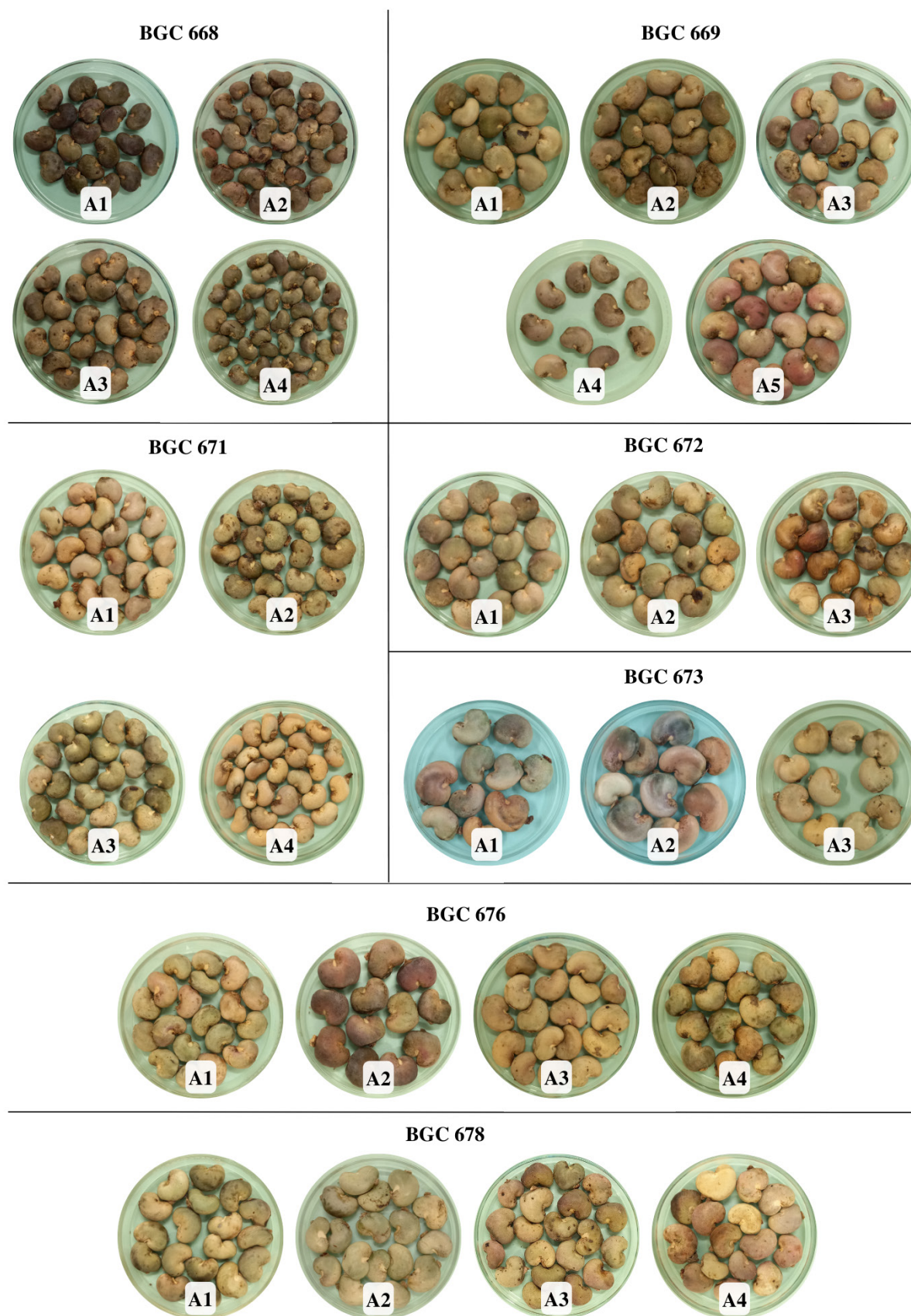
Cada fotografia de gel de RAPD e de ISSR foi verificada quanto à presença/ausência de marcadores (bandas). Isso resultou em matrizes individuais de dados de presença/ausência de bandas (1/0) específicas para cada *primer*. Foram construídas matrizes de distâncias genéticas pelo complemento aritmético do coeficiente de Jaccard. A partir dessas matrizes, foram realizadas as análises de agrupamento pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages*) e de otimização de Tocher. Os dendrogramas foram construídos pelo método UPGMA, e o corte foi realizado seguindo o critério de Mojena (1977). Os coeficientes de correlação cofenética (CCC) de cada dendrograma (RAPD, ISSR e conjunta RAPD+ISSR) foram estimados para a validação do método de agrupamento. As análises estatísticas foram realizadas por meio do software Genes (Cruz, 2016).

## Resultados e discussão

### Diversidade genética das sementes por dados biométricos

O comprimento das sementes variou de 14,2 a 26,0 mm, sendo os indivíduos classificados em sete grupos. Já a largura variou de 11,2 a 21,9 mm, sendo os indivíduos classificados em oito grupos. Por fim, a espessura variou de 7,8 a 11,0 mm, sendo os indivíduos classificados em seis grupos (Tabela 2). As árvores dos acessos BGC 673-A2 e BGC 668-A4 destacaram-se por apresentar o maior e o menor valor de comprimento e largura, respectivamente. No geral, as maiores sementes foram as do acesso BGC 673, enquanto as menores foram as do acesso BGC 668. Existe uma grande variabilidade no tamanho de sementes de árvores tropicais (Cruz; Carvalho, 2003) e isso pode, pelo menos em parte, ter influenciado na variação da biometria das sementes observada no presente estudo.





**Figura 3.** Sementes de cada árvore (identificadas pela letra A, seguida de um número) de cada um dos sete acessos de cajueiro do Cerrado goiano (identificados pelo acrônimo BGC, seguido de um número). Os acessos foram obtidos em localidades no estado de Goiás e compõem o BAG Caju da Embrapa Agroindústria Tropical.

**Tabela 2.** Biometria de castanhas de cajueiro do Cerrado goiano que compõem o BAG Caju da Embrapa Agroindústria Tropical. São apresentados valores médios de comprimento, largura e espessura de 10 sementes de 27 indivíduos/árvores de cajueiro.

BGC	Comprimento	Largura	Espessura
668-A1	18,6e <sup>(*)</sup>	13,9g	7,8f
668-A2	15,2g	13,4g	8,7e
668-A3	17,8f	16,0e	8,7e
668-A4	14,2g	11,2h	7,5f
669-A1	19,6d	17,2d	9,6d
669-A2	20,2d	17,6d	10,6b
669-A3	19,7d	16,7e	9,2d
669-A4	18,9e	15,4f	8,4e
669-A5	20,6d	18,6c	9,8c
671-A1	17,2f	15,3f	8,7e
671-A2	15,4g	16,3e	8,9e
671-A3	17,5f	15,3f	10,0c
671-A4	15,4g	15,1f	8,9e
672-A1	19,6d	18,5c	9,2d
672-A2	18,7e	18,4c	10,7b
672-A3	17,8f	18,8c	10,1c
673-A1	23,8b	20,3b	11,0a
673-A2	26,0a	21,9a	10,5b
673-A3	21,8c	20,6a	10,4c
676-A1	20,3d	17,8d	11,0a
676-A2	23,6b	20,6b	11,0a
676-A3	21,6c	17,8d	9,7c
676-A4	19,5d	19,1c	11,3a
678-A1	20,2d	18,2c	9,4d
678-A2	20,7d	19,1c	9,1d
678-A3	18,1f	18,4c	10,1c
678-A4	19,6d	18,1d	10,3c

<sup>(\*)</sup> Médias seguidas pelas mesmas letras (na coluna) pertencem ao mesmo grupo pelo critério de Scott- Knott, a 5% de significância.

Por meio do método de Singh (Tabela 3), as variáveis que mais contribuíram para a divergência foram o comprimento (31,7%) e a largura (50,5%). Isso pode ser comprovado visualmente, quando se observam as sementes uma ao lado da outra

(Figura 4). A espessura foi a variável com menor contribuição (17,8%). Variáveis assim podem ser descartadas em estudos posteriores, otimizando tempo e custo nas mensurações (Grigolo et al., 2018).

**Tabela 3.** Contribuição relativa para divergência das variáveis biométricas avaliadas para 27 indivíduos/árvores de cajueiro do Cerrado goiano por meio da metodologia de Singh (1981).

Variável	Contribuição relativa (%)
Comprimento	31,7
Largura	50,5
Espessura	17,8



Fotos: Érika Beatriz de Lima Castro

**Figura 4.** Diferenças biométricas em sementes dos acessos de cajueiro do Cerrado que compõem o BAG Caju da Embrapa Agroindústria Tropical.

O dendrograma construído a partir da distância de Mahalanobis ( $D^2$ ), utilizando-se o método UPGMA, resultou em três grupos principais (Figura 5). No grupo I, os indivíduos agrupados pertencem ao acesso BGC 673, exceto o BGC 676-A2, e foram os que apresentaram os maiores valores para os caracteres de biometria avaliados, principalmente para a variável largura. O grupo II indica que indivíduos de diferentes acessos são semelhantes, mesmo possuindo diferenças biométricas significativas (Tabela 2), pois estas não foram suficientes para distingui-los. No grupo III, os indivíduos pertencem ao mesmo acesso (BGC 668) e foram os que apresentaram os menores valores para largura e comprimento de semente.

O coeficiente de correlação cofenética (CCC) do dendrograma foi de 0,66, valor que foi significativo pelo teste t ( $P < 0,01$ ). Esse valor de CCC mais baixo pode ser devido ao número reduzido de variáveis (Conceição et al., 2014). Valores de CCC de 0,61

e 0,62 são considerados aceitáveis para os ajustes nas análises de agrupamento (Patto et al., 2004). Portanto, o valor obtido de CCC do dendrograma foi aceitável, tendo em vista o reduzido número de variáveis analisadas e a significância do resultado.

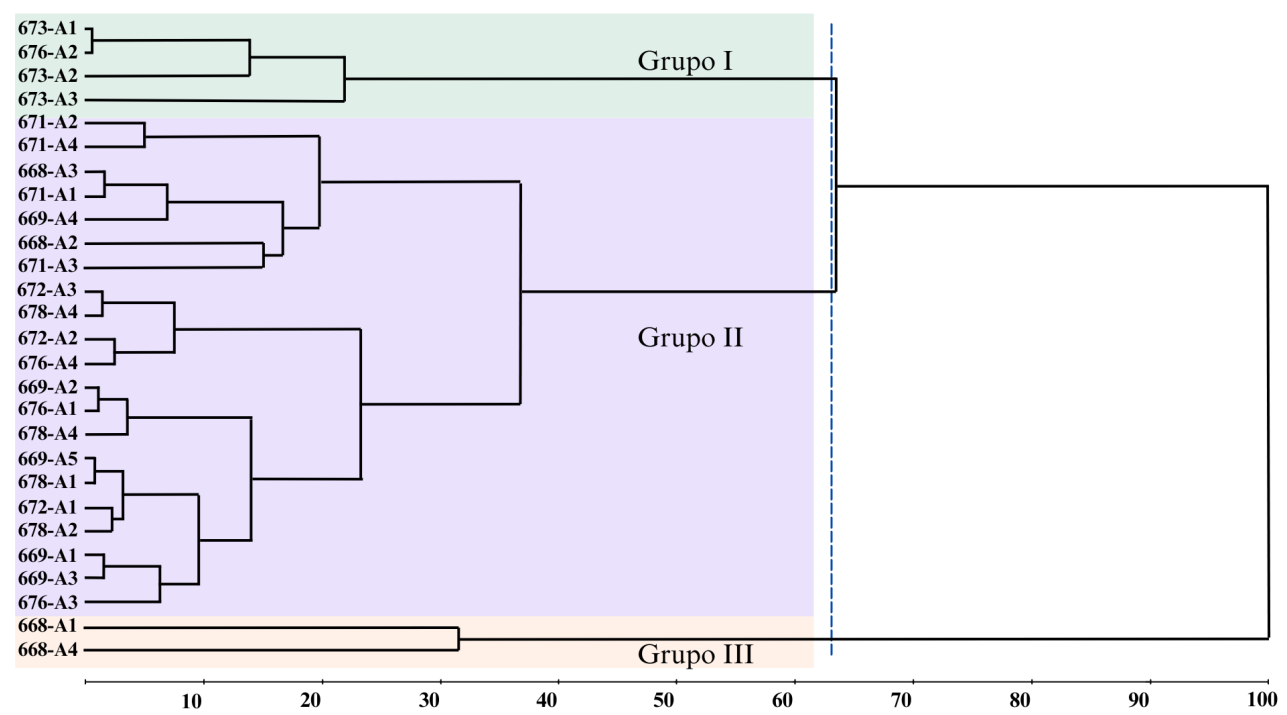
As árvores foram agrupadas em oito grupos, utilizando-se o método de otimização de Tocher (Tabela 4). As árvores dos acessos 671-A2, 668-A1, 668-A4 e 673-A3 foram as que apresentaram maior divergência. O método de Tocher mantém a homogeneidade dentro dos grupos e a heterogeneidade entre os grupos (Correa et al., 2021), o que pode explicar o padrão observado no presente estudo.

Ao comparar os agrupamentos obtidos pelos métodos UPGMA e Tocher, nota-se que foram formados agrupamentos aparentemente similares; entretanto, o método de Tocher classificou as árvores em mais grupos, apresentando maior poder de discriminação. Em ambos os métodos de agrupamento, as árvores 673-A1, 676-A2 e 673-A2 compuseram

um mesmo grupo. O dendrograma gerado pelo método de UPGMA formou um amplo grupo (Grupo II) que incluiu a maioria das árvores, ao passo que no método de Tocher essas mesmas árvores foram distribuídas em três grupos diferentes (II, III e IV).

O método UPGMA é mais detalhado, sendo possível inferir os mais semelhantes dentro do grupo por meio das distâncias dos indivíduos, complementando os resultados obtidos pelo método de Tocher, que discriminou os indivíduos mais distintos. Portanto, os resultados obtidos por meio dos métodos de UPGMA e Tocher indicaram a presença

de variabilidade genética nos acessos de cajueiro. Além disso, a variabilidade encontrada entre e dentro dos acessos pode estar relacionada ao fato de que essas sementes foram coletadas em populações naturais, em que não se tem controle da época de germinação das sementes, polinização e agentes polinizadores, dispersão das sementes, entre outros fatores. Por isso, é importante a realização de estudos que envolvam populações naturais do cajueiro, para que a conservação e o uso desse germoplasma seja feito de forma eficiente.



**Figura 5.** Dendrograma de dissimilaridade genética (UPGMA) com os 27 indivíduos/árvores de cajueiro do Cerrado, obtido por meio da distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ ), estimado com base nos caracteres biométricos das sementes. A linha vertical azul indica o ponto de corte a 67%, seguindo o critério de Mojena (1977).

**Tabela 4.** Formação de grupos de indivíduos/árvores estabelecidos pelo método de Tocher, com base na distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ ).

Grupos	Indivíduos
I	673-A1, 676-A2 e 673-A2
II	669-A5, 678-A1, 672-A1, 678-A2, 669-A1, 669-A3, 676-A3, 678-A4, 669-A2 e 676-A1
III	672-A3, 678-A3, 672-A2 e 676-A4
IV	668-A3, 671-A1, 669-A4, 671-A3, 671-A4 e 668-A2
V	671-A2
VI	668-A1
VII	668-A4
VIII	673-A3



### Diversidade genética com base em marcadores moleculares (RAPD e ISSR)

Conforme mencionado, a diversidade genética molecular do acesso BGC 676 de cajueiro foi avaliada utilizando-se 10 *primers* RAPD e 10 *primers* ISSR. Para os marcadores RAPD, obteve-se um total de 29 bandas, com 17 (58,32%) bandas polimórficas (Tabela 5). Para os marcadores ISSR, obteve-se um total de 33 bandas, com 21 (62,64%) bandas polimórficas (Tabela 5).

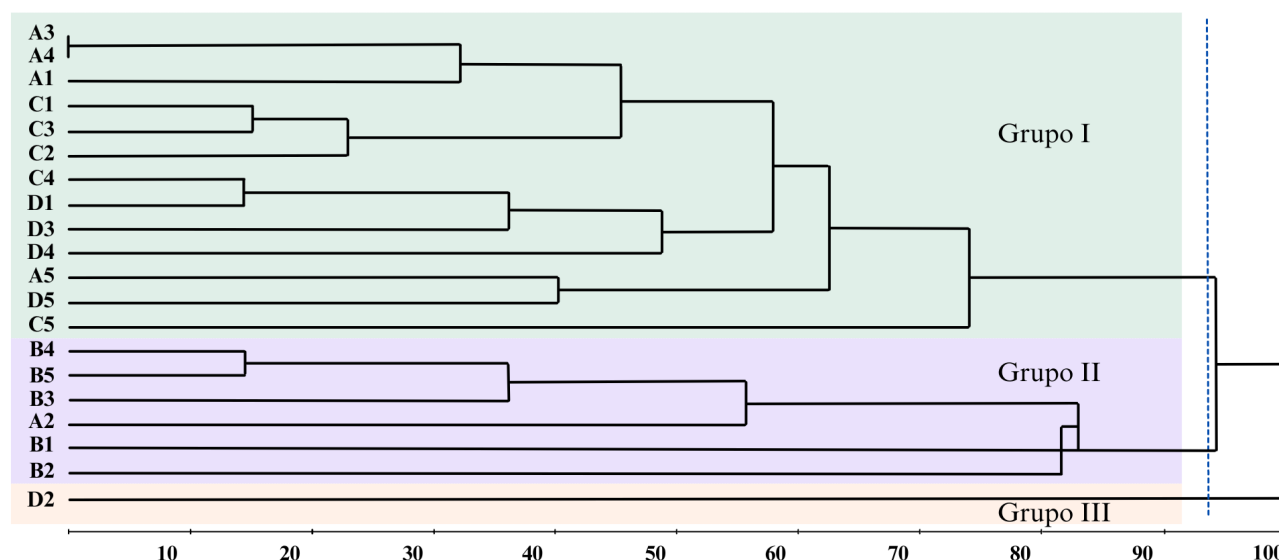
A partir do marcador RAPD, foi construído um dendrograma utilizando-se o método UPGMA,

composto por três grupos principais (Figura 6). Em relação à formação dos grupos, o grupo I foi formado pela maioria dos indivíduos (sementes) das árvores A, C e D, sendo que dentro do grupo ocorreu uma aproximação entre os indivíduos da mesma árvore. No caso dos indivíduos A3 e A4, não houve diferença molecular entre eles a partir dos *primers* RAPD utilizados. O grupo II foi formado por indivíduos da mesma árvore, com exceção do indivíduo A2. O grupo III consistiu apenas do indivíduo D2, destacando-se por ter ficado isolado, indicando maior variabilidade em relação aos demais, de acordo com esse marcador.

**Tabela 5.** *Primers* polimórficos de RAPD e ISSR selecionados em amplificações de DNA do acesso BGC 676.

<b>Primer RAPD</b>	<b>Sequência completa (5'-3')</b>	<b>Ta (°C)</b>	<b>TB</b>	<b>BP</b>	<b>P (%)</b>
OPA-05	AGGGGTCTTG	35	4	3	75,0
OPA-08	GTGACGTAGG	35	2	1	50,0
OPA-09	GGGTAACGCC	35	4	3	75,0
OPC-20	ACTTCGCCAC	35	4	2	50,0
OPD-20	ACCCGGTCAC	35	3	2	66,6
OPF-12	ACGGTACCAG	35	2	1	50,0
OPG-10	AGGGCCGTCT	35	3	1	33,3
OPN-03	GGTACTCCCC	35	2	1	50,0
OPN-06	GAGACGCACA	35	2	2	100,0
OPL-08	AGCAGGTGGA	35	3	1	33,3
<b>Total</b>		—	29	17	58,32
<b>Primer ISSR</b>	<b>Sequência completa (5'-3')</b>	<b>Ta (°C)</b>	<b>TB</b>	<b>BP</b>	<b>P (%)</b>
I01	(GACA) <sub>4</sub>	61.0	3	2	66,6
I02	(GAAGTGGG) <sub>2</sub>	62.0	3	1	33,3
I05	(TCC) <sub>5</sub>	57.0	2	1	50,0
I818	(CA) <sub>8</sub> G	50.0	3	2	66,6
I823	(TC) <sub>8</sub> T	44.7	4	2	50,0
I834	(AG) <sub>8</sub> YT	50.4	3	2	66,6
I836	(AG) <sub>8</sub> YA	50.0	5	3	60,0
I842	(GA) <sub>8</sub> YG	50.0	3	1	33,3
I848	(CA) <sub>8</sub> RG	50.8	4	4	100,0
I881	(GGGTG) <sub>3</sub>	55,3	3	3	100,0
<b>Total</b>		—	33	21	62,64

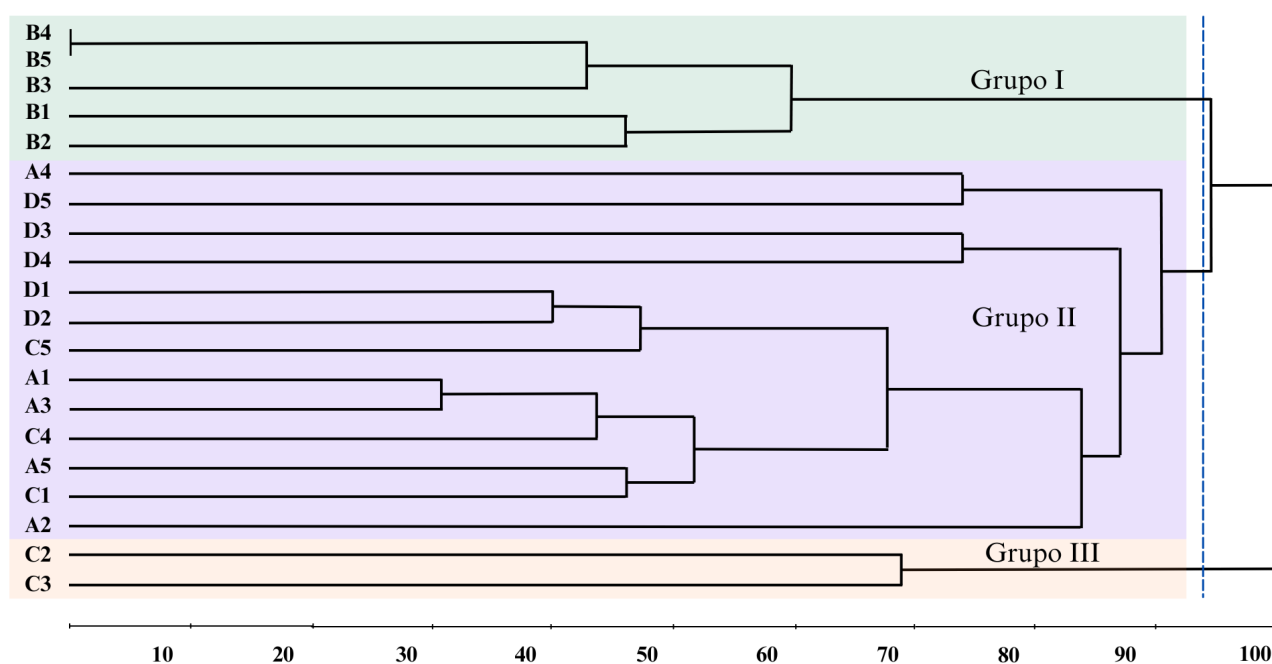
Ta = Temperatura de anelamento; Y = C ou T; R = A ou G; TB = Total de bandas; BP = Bandas polimórficas; e P% = Porcentagem de polimorfismo.



**Figura 6.** Dendrograma de dissimilaridade genética (UPGMA) de 20 indivíduos do acesso BGC 676, obtido por meio do complemento aritmético do coeficiente de Jaccard, estimado com base em 10 marcadores RAPD. A linha vertical azul indica o ponto de corte a 94%, seguindo o critério de Mojena (1977). Os indivíduos correspondem à identificação das sementes utilizadas de quatro árvores (A, B, C e D) do acesso BGC 676.

A partir do marcador ISSR, foi construído um dendrograma utilizando-se o método UPGMA, em que foram formados três grupos principais (Figura 7). No grupo I, todos os indivíduos pertencem à mesma árvore, sendo que os indivíduos B4 e B5 não apresentaram diferença molecular entre eles, de acordo com os *primers* ISSR utilizados.

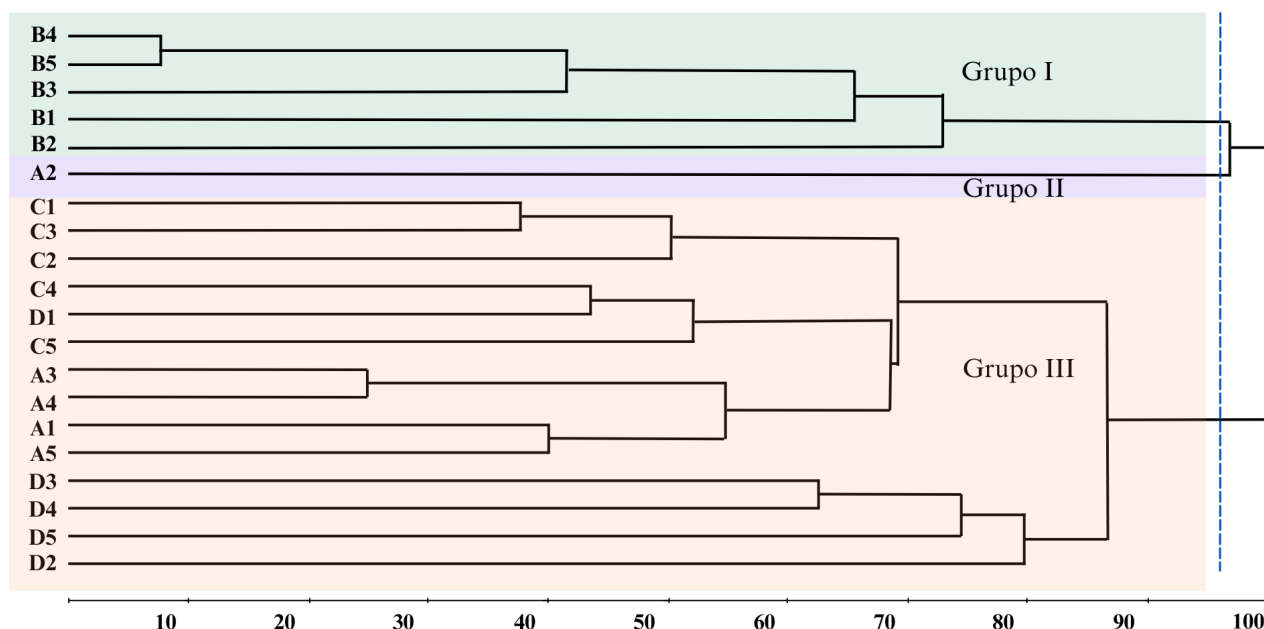
O grupo II foi formado pelos indivíduos das árvores A, C e D, sendo que os indivíduos da árvore D ficaram bem próximos entre eles. O grupo III foi formado apenas pelos indivíduos C2 e C3, indicando maior semelhança entre eles e maior variabilidade quando comparados aos outros indivíduos, inclusive os da mesma árvore.



**Figura 7.** Dendrograma de dissimilaridade genética (UPGMA) em 20 indivíduos do acesso BGC 676, obtido por meio do complemento aritmético do coeficiente de Jaccard, estimado com base em 10 marcadores ISSR. A linha vertical azul indica o ponto de corte a 94%, seguindo o critério de Mojena (1977). Os indivíduos correspondem à identificação das sementes utilizadas do acesso BGC 676.

Unindo-se os resultados dos marcadores RAPD e ISSR, foi construído um terceiro dendrograma utilizando-se o método UPGMA, sendo formados três grupos principais (Figura 8). No grupo I, ficaram agrupados apenas os indivíduos da árvore B. O grupo II incluiu apenas o indivíduo A2, destacando-se

por ter ficado isolado, indicando maior variabilidade, de acordo com os dados conjuntos dos marcadores RAPD e ISSR. O grupo III foi formado pelos indivíduos das árvores A, C e D, sendo que, dentro do grupo, indivíduos da mesma árvore ficaram mais próximos entre si.



**Figura 8.** Dendrograma de dissimilaridade genética (UPGMA) em 20 indivíduos do acesso BGC 676, obtido por meio do complemento aritmético do coeficiente de Jaccard, estimado com base no conjunto de 10 marcadores RAPD e 10 marcadores ISSR. A linha vertical azul indica o ponto de corte a 94%, seguindo o critério de Mojena (1977). Os indivíduos correspondem à identificação das sementes utilizadas do acesso BGC 676.

Com relação à validação dos dendrogramas por meio do coeficiente de correlação cofenética (CCC), foram obtidos os valores de 0,76 para RAPD, 0,68 para ISSR e 0,77 para RAPD+ISSR, respectivamente. Para todos os CCC dos dendrogramas, os valores foram significativos ( $P < 0,01$ ; teste t). Valores de CCC entre 0,60 e 0,80 podem se dever a um pequeno número de variáveis utilizadas (Conceição et al., 2014). Assim, os resultados de CCC dos dendrogramas formados a partir dos dados dos marcadores moleculares são valores aceitáveis, tendo em vista que foram significativos.

A análise de agrupamento por meio do método de otimização de Tocher separou os indivíduos em seis grupos quando baseado em RAPD; oito grupos quando baseado em ISSR; e sete grupos quando baseados em RAPD+ISSR (Tabela 6). De acordo com o método de Tocher, para o marcador RAPD, os indivíduos B2, B1, D2 e C5 foram os que apresentaram maior divergência. Já para o marcador ISSR, os indivíduos A4, D4, D3, A2 e D5 foram os que apresentaram maior divergência. Para o

conjunto de marcadores RAPD+ISSR, os indivíduos D5, D2, B2 e A2 foram os que apresentaram maior divergência.

A partir da formação de grupos pelo método de Tocher, foi possível visualizar a coerência com os agrupamentos estabelecidos pelo método de UPGMA. Pelo método de agrupamento de UPGMA, para todos os marcadores, ocorreu a formação de um amplo grupo contendo a maioria dos indivíduos; entretanto, pelo método de Tocher, esses mesmos indivíduos acabaram sendo distribuídos em grupos diferentes ou ficando isolados. Por isso, o método de Tocher foi mais discriminante, devido à formação de mais grupos. No entanto, o método UPGMA permitiu que fossem visualizados mais detalhes, por meio das distâncias dos indivíduos, e inferir aqueles que são mais semelhantes dentro de cada grupo. Assim, os resultados da análise molecular, por meio dos métodos de UPGMA e de Tocher, com base nos marcadores moleculares RAPD e ISSR, indicaram uma alta variabilidade genética entre as sementes dentro do acesso BGC 676.

**Tabela 6.** Formação de grupos de indivíduos estabelecidos pelo método de Tocher, de acordo com o marcador molecular, do acesso BGC 676.

RAPD		ISSR		RAPD e ISSR	
Grupo	Indivíduo <sup>(*)</sup>	Grupo	Indivíduo <sup>(*)</sup>	Grupo	Indivíduo <sup>(*)</sup>
I	A3, A4, D1, C4, D3, D5, D4, C2, C3, C1, A1, A5	I	B4, B5, B3, B1, D2, B2	I	B4, B5, B3, B1
II	B4, B5, B3, A2	II	A1, A3, C4, C1, A5, C5, D1	II	A3, A4, A1, C1, A5, C4, D1, C5, C2, C3
III	B2	III	C2, C3	III	D3, D4
IV	B1	IV	A4	IV	D5
V	D2	V	D4	V	D2
VI	C5	VI	D3	VI	B2
–	–	VII	A2	VII	A2
–	–	VIII	D5	–	–

(\*) Os indivíduos correspondem à identificação das sementes utilizadas do acesso BGC 676.

Os dados biométricos e moleculares do acesso BGC 676 apresentaram divergências. No caso dos dados biométricos, pelo método de agrupamento de UPGMA, as árvores do acesso BGC 676 ficaram agrupadas, com exceção da árvore 2 (Figura 5). Pelo método de agrupamento de Tocher (Tabela 4), as árvores ficaram separadas entre os grupos I, II e III. Pelos dados moleculares, para cada marcador, foram formados diferentes grupos nos dois métodos de agrupamento avaliados (UPGMA e Tocher). Dessa forma, embora biometricamente as sementes sejam semelhantes, molecularmente elas possuem diferenças, indicando a presença de variabilidade genética entre e dentro dos acessos.

## Conclusões

Os resultados biométricos indicam variabilidade genética entre e dentro dos acessos de cajueiro do Cerrado. Os resultados da análise com marcadores moleculares com base em RAPD e ISSR indicam variabilidade genética dentro do acesso BGC 676. Assim, apesar da presença de acessos similares, os métodos foram eficazes em identificar os indivíduos (acessos e sementes) divergentes.

## Referências

ALMEIDA, L. H. F.; CORDEIRO, S. A.; PEREIRA, R. S.; COUTO, L. C.; LACERDA, K. W. de S. Viabilidade econômica da produção de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Nativa**, v. 5, n. 1, p. 9-15, 2017.

BRAINER, M. S. C. P.; VIDAL, M. F. Cajucultura nordestina em recuperação. **Caderno Setorial ETENE**, v. 3, n. 54, nov. 2021. Disponível em: [https://bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/993/1/2018\\_CDS\\_54.pdf](https://bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/993/1/2018_CDS_54.pdf). Acesso em: 24 jul. 2024.

CARNEIRO, L.; SILVA, L. S.; GOMES, M. F. C.; SANTOS, M. F.; VALENTE, S. E. S.; GOMES, R. L. F.; COSTA, M. F. Morphological characterization and genetic divergence of a cashew population in Floriano, Piauí, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 18, n. 3, p. 1-8, 2019.

CONCEIÇÃO, A. L. S.; SILVA, M. dos S.; SANTOS, C. C.; ARAUJO, G. de M.; MOREIRA, R. F. C. Variabilidade genética e importância relativa de caracteres em Acessos de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) tipo broad leaf por meio de marcadores fenotípicos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 19, p. 1-8, 2014.

CORREA, A. S. A. S.; LUZ, P. B.; ROSSI, A. A. B.; SILVA, S. A. A. Biometria de frutos e sementes e divergência genética entre matrizes de *Parkia pendula* (will.) Benth. Ex walp. (*Angelim saia*), nativa na Amazônia Matogrossense. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. 1-14, 2021.

CRUZ, E. D.; CARVALHO, J. E. U. Biometria de frutos e sementes e germinação de curupixá (*Micropholis cf. venulosa*. Mart. & Eichler – Sapotaceae). **Acta Amazônica**, v. 33, n. 3, p. 389-398, 2003.

CRUZ, C. D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016.



- DAO, T. P.; VU, D. N.; NGUYEN, D. V.; PHAM, V. T.; TRAN, T. Y. N. Study of jelly drying cashew apples (*Anacardium occidentale* L.) processing. **Food Science & Nutrition**, v. 10, n. 2, p. 363-373, 2022.
- FALEIRO, F. G.; OLIVEIRA, J. da S.; WALTER, B. M. T.; JUNQUEIRA, N. T. V. O Gênero *Passiflora*: diversidade, conservação e uso. 2. ed. In: FALEIRO, F. G. OLIVEIRA, J. da S.; WALTER, B. M. T.; JUNQUEIRA, N. T. V. (ed.). **Banco de germoplasma de Passiflora L. 'Flor da Paixão'**: caracterização fenotípica, diversidade genética, fotodocumentação e herborização. Brasília, DF: Pro Impress, 2020. 140 p.
- FRANÇA, K. de M. A.; ROCHA, L. F. C. S.; SOUSA, L. F. C.; MELO, R. S. de S.; DANTAS, A. C. A. Caracterização morfológica de cajuí (*Anacardium* sp.) do Cerrado Sul Maranhense. **Acta Tecnológica**, v. 14, n. 1, p. 79-91, 2019.
- GRIGOLO, S.; FIOREZE, A. C. da C. L.; DENARDI, S.; VACARI, J. Implicações da análise univariada e multivariada na dissimilaridade de acessos de feijão-comum. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 17, n. 3, p. 351-260, 2018.
- GUSMÃO, E.; VIEIRA, F. A.; FONSECA JÚNIOR, E. M. Biometria de frutos e endocarpos de murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss.). **Cerne**, v. 12, n. 1, p. 84-91, 2006.
- IBGE. **Produção de Castanha-de-caju (cultivo)**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/castanha-de-caju-cultivo/br>. Acesso em: 9 abr. 2023.
- JEYAVISHNU, K.; THULASIDHARAN, D.; SHEREEN, M. F.; ARUMUGAM, A. Increased revenue with high value-added products from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) addressing global challenges. **Food and Bioprocess Technology**, v. 14, p. 985-1012, 2021.
- MOJENA, R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. **The Computer Journal**, v. 20, p. 359-363, 1977.
- OLIVEIRA, J. da S.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Recursos genéticos e caracterização morfo-agronômica. In: FALEIRO, F. G.; OLIVEIRA, J. da S.; WALTER, B. M. T.; JUNQUEIRA, N. T. V. (ed.). **Banco de germoplasma de Passiflora L. 'Flor da Paixão'**: caracterização fenotípica, diversidade genética, fotodocumentação e herborização. Brasília, DF: Pro Impress, 2020. 140 p.
- PAIVA, J. R.; CRISÓSTOMO J. R.; BARROS, L. M. **Recursos genéticos do cajueiro**: coleta, conservação, caracterização e utilização. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003. 43 p.
- PAIVA, S. R.; TEIXEIRA, F. F.; RAMOS, S. R. R.; MACHADO, C. de F.; MAZZOCATO, A. C.; LAMEIRA, O. A.; LEITE, D. L.; CASTRO, A. C. R. de; MELLO, S. C. M. de; SILVA, J. B. T. da; AZEVEDO, V. C. R. Caracterização de Recursos Genéticos. In: PAIVA, S. R.; ALBUQUERQUE, M. S. M.; SALOMÃO, A. N.; JOSÉ, S. C. B. R.; MOREIRA, J. R. A. (ed.). **Recursos genéticos**: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2019. 298 p.
- PATTO, M. C. V.; SATOVIC, Z.; PÊGO, S.; FEVEREIRO, P. Assessing the genetic diversity of portuguese maize germplasm using microsatellite markers. **Euphytica**, n. 137, p. 63-72, 2004.
- RAMALHO, A. B.; ROSSI, A. A. B.; DARDENGO, J. F. E.; ZORTÉA, K. É. M.; TIAGO, A. V.; MARTINS, K. C. Diversidade genética entre genótipos de *Bertholletia excelsa* por meio de marcadores moleculares ISSR. **Floresta**, v. 46, n. 2, p. 207-214, 2016.
- RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. As Principais Fitofisionomias do Bioma Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. de; RIBEIRO, J. F. (ed.). **Cerrado**: ecologia e flora. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. 151-199 p.
- SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, v. 41, p. 237-245, 1981.
- SINGH, P.; SINGH, S. P.; TIWARI, A. K.; SHARMA, B. L. Genetic diversity of sugarcane hybrid cultivars by RAPD markers. **3 Biotech**, v. 7, n. 3, p. 222, 2017.
- SOUSA, R. F. de; NASCIMENTO, J. L. do; FERNANDES, E. P.; LEANDRO, W.; CAMPOS, A. B. Matéria orgânica e textura do solo em veredas conservadas e antropizadas no bioma Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 8, p. 861-866, 2011.
- SOUZA, R. L.; DIAS, L. A. dos S.; CORRÊA, T. R.; CAIXETA, E. T.; FERNANDES, E. da C.; MUNIZ, D. R.; ROSMANINHO, L. B. de C.; CARDOSO, P. M. R. Genetic variability revealed by microsatellite markers in a germplasm collection of *Jatropha curcas* L. in Brazil: an important plant for biofuels. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 19, p. 337-346, 2019.
- WADE, R.; AUGYTE, S.; HARDEN, M.; NUZHDIN, S.; YARISH, C.; ALBERTO, F. Macroalgal germplasm banking for conservation, food security, and industry. **PLoS Biology**, v. 18, n. 2, p. 1-10, 2020.



MINISTÉRIO DA  
AGRICULTURA E  
PECUÁRIA