

VARIABILIDADE GENÉTICA DE CAJUZINHO-DO-CERRADO (*Anacardium humile* ST. HILL.) POR MEIO DE MARCADORES RAPD¹

RAQUEL DOS SANTOS CARVALHO², JEFFERSON FERNANDO NAVES PINTO³,
EDÉSIO FIALHO DOS REIS⁴, SILVIA CORREA SANTOS⁵, LUIZ ANTÔNIO DOS SANTOS DIAS⁴

RESUMO - Nativo do Cerrado brasileiro e com alta variabilidade morfológica, o cajuzinho-do-cerrado (*Anacardium humile* St. Hill.) apresenta frutos de grande aceitação pelas populações locais, os quais atraem por suas características peculiares, como tamanho, sabor único e potencial para uso sustentável por produtores e pela indústria. A produção de sementes limitada, acarretada pela baixa polinização e pela alta predação por animais e insetos, dificulta a propagação da espécie. O conhecimento da variabilidade genética do cajuzinho-do-cerrado é importante para maximizar o uso de 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 de Goiás e Mato Grosso, foi estimada por meio de marcadores RAPD. As similaridades genéticas foram estimadas a partir da matriz binária, tendo sido processadas análises de agrupamento e de dispersão gráfica a partir da matriz de distâncias. Os iniciadores com maior expressão foram OPA11 e 08. Os dez iniciadores utilizados geraram 157 bandas, sendo 156 polimórficas (99%), com média de 15,6 bandas/ iniciadores. Grande variabilidade dentro de municípios foi detectada, sendo o polimorfismo superior a 90%, exceto da procedência de Jataí-GO. A distância entre acessos variou de 0,138 a 0,561, com média de 0,370, sendo os menores valores registrados entre os acessos de Mineiros-GO, e Serranópolis-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.

Termos para Indexação: Anacardiaceae, diversidade genética, polimorfismo, recursos genéticos e banco de germoplasma.

GENETIC VARIABILITY OF BUSHY CASHEW (*Anacardium humile* ST. HILL.) THROUGH RAPD MARKERS

ABSTRACT - Native from the Brazilian cerrado and showing high morphological variability for fruit and size, the bushy cashew (*Anacardium humile* St. Hill.) produce fruits that are widely accepted by the local population, that are attracted because of its peculiar characteristics like size, unique flavor and potential for sustainable use by producers and industry. The limited production of seeds, caused by low pollination and high animal and insect predatory activity, makes the species propagation more difficult. 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 (origin) from the Cerrado of the states of Goiás and Mato Grosso was quantified through RAPD markers. The genetic similarities were estimated from the binary matrix, being processed cluster analysis and graphic dispersion from the distance matrix. The *primers* with bigger expression were OPA11 and 08. The ten *primers* used generated 157 bands, being 156 polymorphic (99%), with an average of 5.6 bands/ *primer*. It was detected a great variability in the towns, being the polymorphism higher than 90%, except the ones originated from Jataí-GO. The distance between the accesses ranged from 0.138 to 0.561, with an average of 0.370, being the lowest values registered between the accessions of Mineiros-GO and Serranópolis-GO. The accessions of Caiapônia-GO and Santo Antônio do Descoberto-GO were the most distant genetically. The total dissimilarity between the 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 origins in the enrichment of the germplasm bank of the specie.

Index terms: Anacardiaceae, genetic diversity, polymorphism, genetic resources, germplasm bank.

¹(Trabalho 154-11). Recebido em : 16-05-2011. Aceito para publicação em: 26-01-2012. Parte da Dissertação de Mestrado da primeira autora.

²Aluna da Pós-Graduação em Agronomia - UFG - Câmpus Jataí-GO - Rodovia Br 364, Km 192, n.1800, Setor Parque Industrial. CEP: 75801-615. E-mail: raquelbioufg@yahoo.com.br

³Biólogo, Mestre em Produção Vegetal/UFG - Câmpus Jataí-GO. E-mail: jeffernando@ibest.com.br.

⁴Professores colaboradores/ UFG - Câmpus Jataí-GO e UFV, respectivamente. E-mail: edesio7@brturbo.com.br; lasdias@ufv.br

⁵Professor Associado I e orientador da Dissertação de Mestrado/UFG - Câmpus Jataí-GO. E-mail: scscorreia@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Anacardium humile A. St. Hill apresenta alta variabilidade morfológica. Estudos que visem à determinação da variabilidade genética, buscando identificar procedências ou ambientes que apresentem acessos com divergências de alta magnitude, poderão gerar subsídios para estudos sobre sua potencialidade comercial, assim como utilização em programas de melhoramento. Segundo Corrêa (1984) e Almeida et al. (1998), o pedúnculo e a amêndoa dessa espécie são bastante apreciados para consumo *in natura* na região do Cerrado, o que torna a espécie potencial alternativa para geração de renda.

A espécie *Anacardium humile* A. St. Hill (Anacardiaceae), conhecida popularmente como cajuzinho-do-cerrado, cajuí e cajuzinho-do-campo (REDE DE SEMENTES DO CERRADO, 2005), é nativa do Cerrado brasileiro, sendo encontrada nos Estados da Bahia, Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e São Paulo (ALMEIDA et al., 1998). A espécie apresenta hábito subarborescente com caule subterrâneo (CORRÊA, 1984; ALMEIDA et al., 1998). Sua reprodução ocorre geralmente em outubro e novembro, sendo a produção de sementes limitada devido à baixa polinização e à alta predação por animais e insetos (FERRÃO, 1995).

Na literatura, são encontrados muitos trabalhos com o gênero *Anacardium*, mas poucos com *A. humile* A. St. Hill. Esta falta de estudos abre possibilidades para o início de pesquisas a fim de se planejar estratégias futuras de preservação e utilização da espécie (CARVALHO et al., 2005). Devido a esta carência de informações genéticas sobre o cajuzinho-do-cerrado, a técnica molecular de marcadores RAPD torna-se uma ferramenta essencial para fornecer resultados preliminares. 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 esta indicada para espécies pouco estudadas.

Esse marcador tem sido empregado em estudos recentes de diversidade genética de algumas espécies nativas como: maracujazeiro-doce (BELLON et al., 2009); butiazeiro (NUNES et al., 2008), aceroleira (SALLA et al., 2002), bananeira (SOUZA, 2006), açaizeiro (OLIVEIRA et al., 2007), guariroba (PINTO, 2009) e pitaya (JUNQUEIRA et al., 2010), gerando resultados satisfatórios no estudo da diversidade genética dessas espécies.

O presente trabalho estimou a variabilidade genética de 122 acessos de *A. humile* A. St. Hill, procedentes de 11 municípios do cerrado brasileiro,

por meio de marcadores moleculares RAPD.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal

O material de estudo foi originado de folhas coletadas em estado intermediário de maturação, em 122 acessos procedentes de 10 municípios dos Estados de Goiás: Aporé-GO (09 acessos), Caiapônia-GO (09 acessos), Chapadão do Céu-GO (10 acessos), Doverlândia-GO (15 acessos), Itajá-GO (09 acessos), Itarumã-GO (10 acessos), Jataí-GO (10 acessos), Mineiros-GO (10 acessos), Santo Antônio do Descoberto-GO (14 acessos), Serranópolis-GO (11 acessos); e de Mato Grosso: Barra do Garça-MT (15 acessos).

Análise de DNA

O DNA genômico foi extraído utilizando-se do protocolo de Faleiro et al. (2003), com modificações na concentração de Betamercaptanol, onde foram utilizadas 10 vezes mais do utilizado por Faleiro (2003), ou seja, 20 mL por amostra, e o tempo de imersão em banho-maria foi reduzido em uma hora. As reações de amplificação foram realizadas conforme a metodologia de Barros et al. (2005), em que foram utilizados 25 iniciadores: 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 (01 e 05).

As amplificações foram feitas em termociclador programado de acordo com Barros et al. (2005), para 40 ciclos, sendo cada um constituído pela seguinte sequência: 15 s a 94 °C, 30 s a 35 °C e 90 s 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, foram adicionados, a cada amostra, 3µL 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). Ao 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 três 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 10.000 bp.

Análises estatísticas

As bandas RAPD nítidas foram lidas nos géis e convertidas em matriz de dados binários, a

partir da qual foram estimadas matrizes de distâncias entre acessos e acessos/procedências, por meio do complemento aritmético do coeficiente de Nei e Li (1979), usando o software Genes (CRUZ, 2008). A matriz de distância foi utilizada para análise de cluster por UPGMA, com suporte do software SAS (SAS INSTITUTE, 1989) e para dispersão gráfica baseada nas coordenadas principais. Para decidir o número de grupos formados no dendrograma, adotou-se o procedimento de Oliveira et al. (2007), no qual se utiliza a média geral da distância genética entre os acessos.

O procedimento de *Bootstrap* das bandas foi utilizado para estimar o coeficiente de variação (CV) do índice de similaridade de Nei e Li (1979), com 1.000 permutações. A análise foi por meio do software Dboot (COELHO, 2000). Os coeficientes de variação obtidos foram relacionados com o número de bandas. O ponto de curvatura máximo da função ajustada foi determinado quando o coeficiente de variação alcançou 10 %. O parâmetro *b* representa uma medida de heterogeneidade entre bandas, de acordo com Pequeno et al. (2003), e quanto mais o valor de *b* se aproxima de 0,5, maior a taxa de heterogeneidade. Os resultados foram analisados e discutidos por etapas: a partir de dados gerados dentro de cada município de forma individual; em seguida, foi feita a análise de todos os dados gerados entre todas as procedências/municípios e, para finalizar, a análise de todos os acessos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As extrações foram bem-sucedidas, apresentando DNA de qualidade, com bandas nítidas e bem definidas, o que proporcionou a obtenção de marcadores RAPD para a detecção da diversidade genética em cajuzinho-do-cerrado. Dos 25 iniciadores preliminarmente testados, foram selecionados 10, que apresentaram bandas nítidas, intensas e com repetibilidade: OPA (04;08; 09; 11 e 18), OPB (05 e 07), OPM (02 e 03) e OPN 05.

Os valores do parâmetro *b* (Tabela 1) para acessos/municípios variaram de 0,43 (Santo Antônio do Descoberto-GO e Itarumã-GO) a 0,48 (Mineiros-GO, Jataí-GO e Aporé-GO) e revelaram alta taxa de heterogeneidade de bandas dentro dos municípios, já que o valor máximo esperado para esse parâmetro é 0,5 (PEQUENO et al., 2003). Entre municípios, o valor *b* (0,46), superior ao valor encontrado entre acessos (0,37), evidenciou que existe maior diversidade entre municípios do que entre acessos, o que ressalta a importância em trabalhos de melhoramento em priorizar coletas em maior número de municípios,

em detrimento do maior número de acessos dentro do município. A análise feita com acessos/municípios mostrou que os iniciadores com maior expressão foram OPA 11 e 08, enquanto o menos informativo foi OPA 04 (Tabela 1). O maior número de bandas Nbt gerado (156) ocorreu entre acessos de Mineiros-GO, e Doverlândia, seguidos por Chapadão do Céu-GO, e Barra do Garça-MT (155). Em contraste, acessos de Caiapônia-GO, geraram 136 bandas, seguido de Jataí-GO, com 138 bandas. Quanto ao polimorfismo entre os municípios (%P), verificaram-se valores acima de 90% para as procedências, exceto Jataí-GO, que apresentou 83%. A alta porcentagem de marcadores polimórficos evidencia alta variabilidade genética das procedências analisadas. Pela análise de *Bootstrap*, verificou-se quantidade variável de bandas polimórficas a partir do CV e curvatura ajustada a 10 %, indicando que o uso de aproximadamente 35 bandas (acessos de Jataí-GO) a 140 bandas polimórficas (acessos de Santo Antônio de Descoberto-GO) proporcionaria a precisão obtida para as estimativas.

No estudo com Pitaya (JUNQUEIRA et al., 2010), os marcadores RAPD também se mostraram eficientes para detectar a variabilidade genética da espécie. Porém, ao contrário do cajuzinho-do-cerrado, foi detectado baixa variabilidade genética entre os acessos analisados, em que 11 iniciadores geraram 111 bandas, com média de 10,1 bandas/iniciadores. Além disso, dos 111 marcadores, 45 (40,5 %) deles foram polimórficos. No presente trabalho, na análise entre municípios, os 10 iniciadores selecionados amplificaram 146 bandas, 92 % delas polimórficas, e média de 13,4 bandas/iniciadores. A análise de *Bootstrap* indica que é necessário o uso de, no mínimo, 85 bandas para as estimativas de polimorfismo entre acessos/municípios.

A dissimilaridade entre municípios variou de 0,138 a 0,561, com médias de 0,370. Os menores valores foram registrados entre acessos procedentes de Mineiros-GO e Serranópolis-GO. Por outro lado, os acessos de Caiapônia-GO, e Santo Antônio do Descoberto-GO, foram os mais distantes geneticamente. Observa-se, no dendrograma (Figura 1), a formação de quatro grupos, levando em consideração a média da dissimilaridade entre municípios. Dentre estes, o maior grupo foi formado por Aporé-GO, Barra do Garça-MT, Doverlândia-GO, Itajá-GO, Chapadão do Céu-GO, Jataí-GO, Mineiros-GO, e Serranópolis-GO. Caiapônia-GO, Itarumã-GO, e Santo Antônio do Descoberto-GO, formaram grupos singulares. Quanto à consistência desses agrupamentos, esta variou de 37 a 100%, sendo somente o grupo formado por Doverlândia-GO, Barra do Garça-MT, Jataí-GO, e Mineiros-GO, apresentaram

consistência de 100%.

Os resultados em relação aos 122 acessos mostraram que os iniciadores selecionados amplificaram 157 bandas, sendo 99 % delas polimórficas, com média de 15,6 bandas/ iniciadores (Tabela 1). A análise de *bootstrap* indica que o uso de aproximadamente 90 bandas proporcionaria precisão para as estimativas de polimorfismo dos acessos. Também foi realizada a análise de todos os acessos, desconsiderando as procedências. Verificou-se então que a dissimilaridade entre acessos variou de 0,103 a 0,796 (média de 0,390). Isto evidencia maior amplitude de variação comparada àquelas obtidas das procedências. Os menores valores foram registrados entre os acessos 02 e 113, coletados em Mineiros-GO, e Santo Antônio do Descoberto-GO, respectivamente, os quais são municípios geograficamente distantes, aproximadamente 615 km. Por outro lado, os acessos 87 e 114, coletados, respectivamente, em Serranópolis-GO, e Santo Antônio do Descoberto-GO, foram os mais distantes geneticamente. Esses dados indicam que, se o interesse para melhoramento for gerar variabilidade para futuras

seleções, a distância geográfica dos acessos não é fator preponderante e, sim, o uso de acessos divergentes. Houve alta variabilidade genética entre acessos de cajuzinho-do-cerrado procedentes de diferentes municípios e entre acessos dos mesmos municípios, formando grupos heterogêneos (Figura 2). Estes grupos devem ser mais estudados, tendo em vista o distanciamento genético desses acessos da mesma procedência, o que evidencia maior probabilidade de se coletar indivíduos e cobrir com maior facilidade o maior número possível de alelos da espécie. Acessos de Santo Antônio do Descoberto-GO, apresentaram grande variabilidade genética, estando próximos geneticamente de acessos geograficamente distantes e, ao mesmo tempo, apresentando-se diferentes dos demais acessos. Os resultados gerados neste trabalho corroboram a literatura quando comparados a outros trabalhos com RAPD, como o trabalho realizado por Junqueira et al.(2010) com pitaya, demonstrando a importância desses marcadores na análise de variabilidade de espécies pouco estudadas, como o *Anacardium humile* A. St. Hill.

TABELA 1 - Número de bandas totais, número de bandas polimórficas, porcentagem de polimorfismo, média de bandas por iniciadores, iniciadores expressivos, iniciadores menos expressivos, bootstrap e medida da heterogeneidade entre bandas, utilizando marcador RAPD no cajuzinho-do-cerrado, por municípios de coleta.

| Municípios | Nbt**** | Nbp | %P | Mbi | IE | IME | 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 Antônio 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 entre 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); IE= iniciadores expressivos; IME= iniciadores menos expressivos; Mbi= Média bandas por iniciadores; BStrap= bootstrap, e b= medida da heterogeneidade entre bandas.

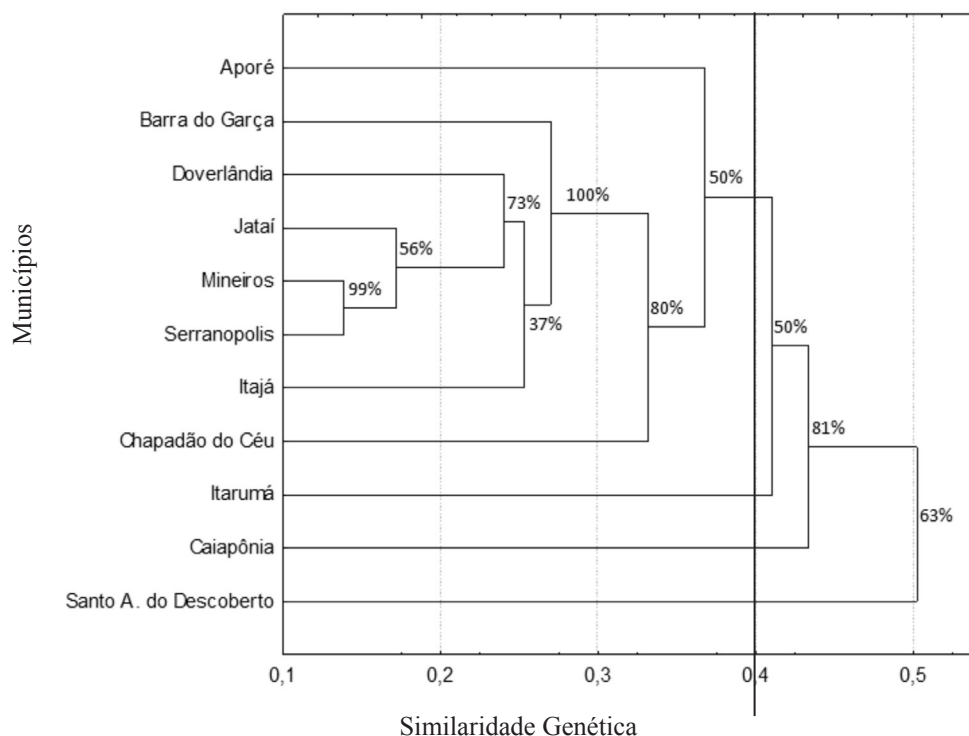


FIGURA 1- Dendrograma de similaridade genéticas entre 11 procedências de cajuzinho-do-cerrado obtido pelo método UPGMA, com base na matriz de marcadores de RAPD. Distância genética média = 0,37. Os valores encontrados nos grupos indicam o valor percentual de vezes que as procedências agruparam juntas em 1.000 ciclos de análise de *bootstrapping*, utilizando o programa Genes. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,91.

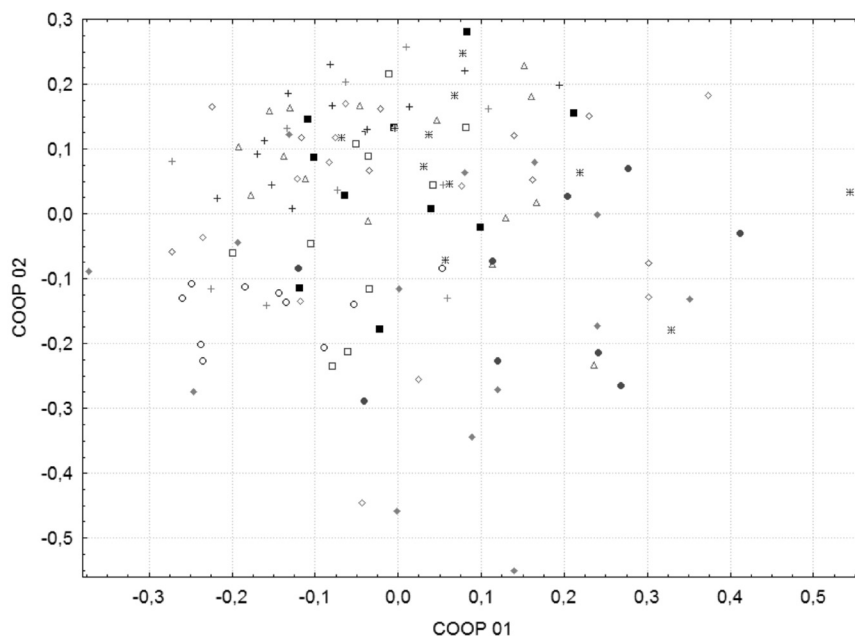


FIGURA 2 - Dispersão gráfica em duas dimensões (2D) relativa à formação de grupos dentro de procedências de Cajuzinho-do-Cerrado entre os 11 municípios (Aporé-GO; Δ Barra do Garça- MT; \bullet Caiapônia-GO \blacksquare Chapadão do Céu-GO; \blacktriangle Doverlândia-GO;+ Itajá-GO,* Itarumã-GO; \circ Jataí-GO; \square Mineiros-GO \blacklozenge Santo Antônio do Descoberto-GO e \diamond Serranópolis-GO).

CONCLUSÕES

A técnica RAPD mostra-se eficiente na caracterização genética da espécie nativa *Anacardium humile* St. Hill, indicando grande variabilidade genética entre acessos. Os iniciadores com maior expressão, em todos os municípios, são OPA 11 e 08. Os resultados obtidos podem ser utilizados para a seleção de indivíduos da espécie em futuros trabalhos de melhoramento e conservação da espécie. Acessos do município de Santo Antônio do Descoberto-GO, apresentam maior variabilidade, comparados aos de outros municípios, indicando maior poder informativo de diversidade, podendo ser utilizados como locais de estudos *in situ* e suas matrizes potenciais fornecedoras de materiais para estruturação de coleções *ex situ*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, CAPES e UFG, pelo suporte financeiro a esta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, S.P.; PROENÇA, C.E.B.; SANO, S.M.; RIBEIRO, J.F. **Cerrado**: espécies vegetais úteis. Planaltina: Embrapa-Cpac, 1998.
- BARROS, A. M.; FALEIRO, F. G.; KARIA, 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, 2005.
- BELLON, G.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, K. P.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FONSECA, K. G.; BRAGA, M. F.; Variabilidade genética de acessos obtidos de populações cultivadas e silvestres de maracujazeiro-doce com base em marcadores RAPD. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, 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: UFV, 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 variável de marcadores**. Goiânia: Laboratório de Genética Vegetal, Instituto de Ciências Biológicas, UFG, 2000.
- CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984.
- CRUZ, C. D. **Programa genes**: diversidade genética. Viçosa: Editora UFV, 2008. v.1, 278 p.
- 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. 5 p. (Comunicado Técnico, 92),
- FERRÃO, J.E.M. **O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.)**. Lisboa: Instituto de Investigação Científica Tropical, 1995.
- JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F.G.; BELLON, G.; N.T.V. JUNQUEIRA; FONSECA, K.G.F.; LIMA, C.A.; SANTOS, E.C.; Variabilidade genética de acessos de pitaya com diferentes níveis de produção por meio de marcadores RAPD. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v.32, n. 3, 2010.
- 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.
- NUNES, A. M.; BIANCHI, V. J.; FACHINELLO, J. C.; CARVALHO, A. Z.; CARDOSO, G.; Caracterização molecular de butiazeiro por marcadores RAPD. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 3, 2008.

- OLIVEIRA, M. S. P.; AMORIM, E. P.; SANTOS, J. B.; FERREIRA, D.F. Diversidade genética entre acessos de açaizeiro baseada em marcadores RAPD. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1645-1653, 2007.
- 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*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.19, n.2, p.45-48, 2003.
- PINTO, J. F. N. **Variabilidade genética de guariroba (*Syagrus oleracea* Becc.) determinadas por descritores morfológicos e marcadores RAPD**. 2009. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, Jataí, 2009.
- REDE DE SEMENTES DO CERRADO. **Rede de sementes do Cerrado: *Anacardium humile* A. St.-Hil.** Disponível em: <<http://www.sementesdocerrado.bio.br>>. Acesso em: 04 jun. 2009.
- 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.
- 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.
- SAS INSTITUTE. **SAS/STAT: user’s guide**. Version 6. 4th ed. North Caroline, 1989.