

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

DIVERSIDADE GENÉTICA E AVALIAÇÃO DO CONTEÚDO
DE DNA NUCLEAR ENTRE MATRIZES DE CAJU-DE-
ÁRVORE-DO-CERRADO (*Anacardium othonianum* Rizzini)

Autora: Valeria Ferreira Oliveira
Orientador: Prof. Dr. Fabiano Guimarães Silva

Rio Verde - GO
Abril – 2018

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

DIVERSIDADE GENÉTICA E AVALIAÇÃO DO CONTEÚDO
DE DNA NUCLEAR ENTRE MATRIZES DE CAJU-DE-
ÁRVORE-DO-CERRADO (*Anacardium othonianum* Rizzini)

Autora: Valeria Ferreira Oliveira
Orientador: Prof. Dr. Fabiano Guimarães Silva
Coorientadores: Prof. Dr. Paulo Sérgio Pereira
Prof. Dr.^a Maria Andréia Corrêa Mendonça

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM AGROQUÍMICA no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde – Área de concentração Agroquímica.

Rio Verde - GO
Abril – 2018

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

O48d Oliveira , Valeria Ferreira
Diversidade genética e avaliação do conteúdo de
DNA nuclear entre matrizes de caju-de-árvore-do-
cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) / Valeria
Ferreira Oliveira ; orientador Fabiano Guimarães
Silva. -- Rio Verde, 2018.
71 p.

Dissertação (Graduação em Mestrado em Agroquímica)
Instituto Federal Goiano, Câmpus Rio Verde, 2018.

1. Conservação de germoplasma. 2. Dissimilaridade
genética. 3. Pedúnculo. 4. Fenotipagem. 5. Correlação
fenotípica.. I. Silva, Fabiano Guimarães, orient. II.
Título.

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

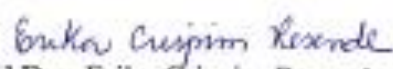
**DIVERSIDADE GENÉTICA E AVALIAÇÃO DO
CONTEÚDO DE DNA NUCLEAR ENTRE MATRIZES
DE CAJU-DE-ÁRVORE-DO-CERRADO (*Anacardium
othonianum* Rizzini)**

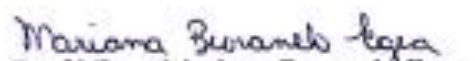
Autora: Valéria Ferreira Oliveira
Orientador: Fabiano Guimarães Silva


TITULAÇÃO: Mestre em Agroquímica – Área de concentração
Agroquímica.

APROVADA em 24 de abril de 2018.


Prof. Dr. Fernando Higino de Lima e
Silva
Avaliador externo
IF Goiano/RV


Prof.ª Dra. Erika Crispim Resende
Avaliadora interna
IF Goiano/Iporá


Prof.ª Dra. Mariana Buranelo Egea
Avaliadora interna
IF Goiano/RV


Prof. Dr. Fabiano Guimarães Silva
Presidente da banca
IF Goiano/RV

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora, por serem meus alicerces, minha fortaleza e por sempre me concederem sabedoria e coragem para seguir em frente.

Aos meus pais, Sebastião Vilela e Gilvania Ferreira e a minha irmã Vanessa Ferreira, meu principal alicerce. Obrigada por cada palavra de incentivo, pela presença constante, pelas orações, por acreditarem em mim.

Aos meus avós, tios, primos e amigos por todo apoio.

Ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, ao curso de Pós-Graduação em Agroquímica, pela oportunidade de realização deste curso e a todos os professores e servidores que compõe esta equipe.

Ao professor Dr. Fabiano Guimarães Silva, pela orientação, pelo apoio e pela disponibilização do laboratório e dos equipamentos constituintes.

Ao professor Dr. Paulo Sérgio Pereira, pela coorientação e auxílio na execução das análises químicas.

À professora Dr.^a Maria Andréia Corrêa Mendonça, pela coorientação, auxílio nas análises de citometria, pela disponibilidade em viajar para Viçosa e pela contribuição nas correções.

À professora Dr.^a Erika Crispim, pela contribuição nas análises cromatográficas e pelo esclarecimento de diversas dúvidas sobre a execução das análises.

Ao professor Dr. Fernando Higino, pela contribuição com a estruturação do projeto, pela contribuição nas correções, pelo intenso apoio e pelos muitos momentos disponibilizados para esclarecimento de dúvidas.

A todos colegas de curso, pelos momentos de alegria e sofrimento que passamos juntos na realização das matérias.

Aos meus colegas de laboratório, pelas ajudas nas coletas, na realização de análises e por me proporcionar momentos de alegria e descontração nas árduas rotinas diárias de laboratório.

Ao órgão de fomento FAPEG, pela concessão da bolsa de estudo.

A todos que, de alguma forma, ajudaram-me até aqui.

Muito obrigada!

BIOGRAFIA DO ALUNO

Valeria Ferreira Oliveira, filha de Sebastião Vilela de Oliveira e Gilvania Ferreira Leonel de Oliveira. Nasceu em 11 de abril de 1995, na cidade de Iporá-Goiás. Em fevereiro de 2012, ingressou no curso de licenciatura em Química no Instituto Federal Goiano – Campus Iporá, concluindo a graduação em dezembro de 2015. Em março de 2016 iniciou no Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, sob a orientação do professor Dr. Fabiano Guimarães Silva.

ÍNDICE

	Página
AGRADECIMENTOS	ii
BIOGRAFIA DO ALUNO	iv
ÍNDICE	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE TABELAS.....	ix
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT.....	xiii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 O Bioma Cerrado	2
1.2 Caju-de-árvore-do-cerrado (<i>Anacardium othonianum</i> Rizzini.).....	3
1.2.1 Características botânicas	3
1.2.2 Características físicas, químicas e físico-químicas do fruto e pseudofruto.....	5
1.3 Metabólitos Secundários	7
1.4 Estimativas de correlações fenotípicas.....	9
1.5 Diversidade Genética: Agrupamento	9
1.6 Citometria de fluxo	10
2 OBJETIVOS	12
2.1 Geral	12
2.2 Específicos	12
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Localização e identificação das matrizes	13
3.2 Identificação da espécie	13

3.3 Coleta e armazenamento dos frutos e pseudofrutos	14
3.4 Caracterização física	16
3.4.1 Morfometria do fruto e pseudofruto	16
3.4.2 Colorimetria do pseudofruto.....	16
3.5. Análises físico-químicas: Acidez titulável total, pH e Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	17
3.6 Caracterização química: Extrações de flavonoides e fenólicos	18
3.7 Citometria de fluxo para determinação do tamanho do genoma em pictogramas (pg).....	19
3.8 Análises genético – estatísticas	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1 Caracterização	21
4.1.1 Análise morfométrica	21
4.1.2 Análise colorimétrica	25
4.1.3 Análise físico-química.....	27
4.1.4 Análise química: Determinação de flavonoides e fenólicos.....	29
4.2 Correlações.....	37
4.3 Diversidade genética	39
4.4 Citometria de fluxo para determinação do tamanho do genoma em pictogramas (pg).....	43
5 CONCLUSÕES	47
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Distribuição da área do bioma “Cerrado” no Brasil. Fonte: Adaptado de Lopes (1977) citado por Lopes; Guilherme (2016).	3
Figura 2 - Folhas e flores (A), frutos e pseudofrutos (B) e árvore (C) de caju-de-árvore-do-cerrado (<i>Anacardium othonianum</i> Rizzini) encontrados no cerrado goiano.....	5
Figura 3 - Frutos de caju-de-árvore-do-cerrado (<i>Anacardium othonianum</i> Rizzini), com pseudofrutos de colorações amarelo (A), alaranjado (B) e vermelho (C).	6
Figura 4 - Estrutura básica de flavonoides e subdivisão das diferentes classes (Raffa et al., 2017).	8
Figura 5 - Localização das trinta matrizes (A) de caju-de-árvore-do-cerrado (<i>Anacardium othonianum</i> Rizzini), na região do noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás-Goiás. (B) Zoom da área onde os picos ficaram mais aglomerados na figura A.....	15
Figura 6 - Frutos de trinta matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (<i>Anacardium othonianum</i> Rizzini), pseudofruto (A) e fruto (B), coletados na região localizada no município de Montes Claros de Goiás-Goiás (os frutos das matrizes 121 e 141 mostrados na figura não foram selecionados para as análises).....	24
Figura 7 - Fórmulas estruturais dos compostos identificados por CLAE-DAD/UV-Vis.	30
Figura 8 – Cromatogramas de CLAE-DAD/UV-Vis a 254 nm obtidos do extrato de pseudofrutos de caju-de-árvore-do-cerrado (<i>Anacardium othonianum</i> Rizzini) da matriz 01 (A) e da matriz 04 (B).	31
Figura 9 - Heatmap com os coeficientes de correlação de Pearson estimados por variáveis morformétricas, físico-químicas, colorimétrica e químicas de caju-de-árvore-	

do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) localizados no noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás-Goiás. 37

Figura 10 - Contribuição relativa das características avaliadas (%), segundo metodologia de Singh (1981), em caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) 40

Figura 11 – Dendrograma das trinta matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) localizadas no noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás-Goiás, obtido por meio do método UPGMA considerando a distância euclidiana. Coeficiente de correlação cofenética estimado de 0,89. 41

Figura 12 - Histograma representando os núcleos de caju (*Anacardium othonianum* Rizzini, matriz 36) e tomate (*Solanum lycopersicum* L., utilizado como padrão interno) corados com iodeto de propídeo. 44

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1 – Identificação do material botânico das 20 plantas selecionadas de <i>Anacardium othonianum</i> Rizzini, no Herbário IF Goiano Campus - Rio Verde.	14
Tabela 2 - Valores médios de variáveis morfométricas da fruto e do pseudofruto, interpretadas pelo uso de estatística descritiva, de 30 matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (<i>Anacardium othonianum</i> Rizzini) localizadas no noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás – Goiás.	22
Tabela 3 - Valores médios de colorimetria, medidas em escalas de cores medias CIE L*, a*, b*, H* _{ab} e C* _{ab} do pseudofruto de 30 matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (<i>Anacardium othonianum</i> Rizzini) localizadas no noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás – Goiás.	26
Tabela 4 - Valores médios de análise físico-químicas do pseudofruto de 30 matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (<i>Anacardium othonianum</i> Rizzini) localizadas no noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás-Goiás.	28
Tabela 5 - Tempo de retenção identificados em CLAE-DAD/ UV-Vis, pela extração fenólicos e flavonoides do pseudofruto de 30 matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (<i>Anacardium othonianum</i> Rizzini) localizadas no noroeste goiano o, município de Montes Claros de Goiás – Goiás.	32
Tabela 6 - Concentração de fenólicos e flavonoides identificados em CLAE-DAD/ UV-Vis, do pseudofruto de 30 matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (<i>Anacardium othonianum</i> Rizzini) localizadas no noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás-Goiás.	35
Tabela 7 - Conteúdo de DNA nuclear, medido em pg(pictogramas)/2C e mpb (milhões de pares de base), obtido em citômetro, por extração de células de folhas novas de trinta matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (<i>Anacardium othonianum</i> Rizzini) localizadas no noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás-Goiás e de três matrizes de <i>Anacardium occidentale</i> fornecido pela EMBRAPA do nordeste brasileiro.	46

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

<i>A. othonianum</i> Rizz.	<i>Anacardium othonianum</i> Rizzini
<i>A. occidentale</i> L.	<i>Anacardium occidentale</i> Linnaeus
CF	Comprimento do fruto
LF	Largura do fruto
MF	Massa do fruto
EF	Espessura do fruto
CP	Comprimento do pseudofruto
LAP	Largura do ápice do pseudofruto
MP	Massa do pseudofruto
ATT	Acidez total titulável
SST	Sólidos solúveis totais
SST/ATT	Índice de maturação
CLAE-DAD/UV-VIS	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada ao Detector de Arranjo de Diodo com sistema de detecção Ultravioleta/Visível
CIE	Comissão Internacional de Iluminação
UPGMA	<i>Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages</i> - Método pela associação média
pg/2C	Picogramas de DNA/ por genoma em núcleos diploides
h^2	Herdabilidade
R	Repetibilidade
r	Coefficiente de correlação de Pearson
C	Coefficiente de correlação cofenética

RESUMO

OLIVEIRA, VALERIA FERREIRA. Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde – GO, abril de 2018. **Diversidade genética e avaliação do conteúdo de DNA nuclear entre matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini)**. 2018. Orientador: Dr. Fabiano Guimarães Silva. Coorientadores: Dr. Paulo Sérgio Pereira, Dr.^a Maria Andréia Corrêa Mendonça.

O Cerrado possui uma vegetação abundante distribuída em diversas áreas do mundo, compreendendo-se em regiões tropicais e subtropicais. No Brasil, este bioma ocupa 23% (2 milhões km²) da área territorial. O caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) da família Anacardiaceae, é uma planta com ampla distribuição no cerrado brasileiro. O fruto e o pseudofruto compõem o caju, apresentando características distintas, dependente de sua localização. Assim, com este trabalho, objetivou-se estabelecer a diversidade genética por descrição de características físicas, químicas, físico-químicas e do conteúdo do DNA nuclear do *A. othonianum*, em uma população de trinta árvores matrizes localizadas na região do noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás – Goiás. Observou-se alta variabilidade fenotípica, no qual o pseudofruto apresentou maior variância entre os dados morfométricos obtidos. A análise colorimétrica caracterizou os pseudofrutos quanto às variáveis L* (Luminosidade), a* (coordenada vermelho/verde), b* (coordenada amarelo/azul), H*_{ab} (tonalidade) e C*_{ab} (saturação), sendo os valores de a* e b* os principais interferentes na determinação da cor, indicando variação do amarelo ao avermelhado. As análises físico-químicas, ATT [acidez total titulável (%)], SST [sólidos solúveis totais (°Brix)], pH (potencial hidrogeniônico) e SST/ATT (relação que indica

índice de maturação), caracterizaram os pseudofrutos quanto a sua palatabilidade, indicando ter sabor ácido, com alta quantidade de açúcar e baixo índice de maturação. Na determinação de flavonoides e fenólicos por CLAE-DAD/UV-Vis, foram identificados quatorze compostos: Ácido Clorogênico, Epicatequina, Orientina, Vitexina, Hesperidina, Quercetina 3-O-Glucosídeo, Rutina, Kaempferol-3-O-Galactosídeo, Quercetrina, Kaempferol-3-O-Glucosídeo, Miricetina 3-O-arabino-piranosídeo, Quercetina 3-O-galactosídeo, Miricetina 3-O-rhamnosídeo e a Quercetina 3-O-xylo-piranosídeo, no entanto, nem todos foram identificados em todas as matrizes. Com relação aos coeficientes de correlação estimados, as variáveis analisadas que apresentaram maior correlação e similaridade no seu desenvolvimento foram o L* com o C*_{ab} (0,9913**), o comprimento e a massa do fruto (0,9367**) e a largura do ápice com a massa do pseudofruto (0,9035**). Utilizando o método de associação média (UPGMA), observou-se que a MP, LC, SST/ATT, a*, concentração de flavonoides e pH foram as principais variáveis que contribuíram para a formação de grupos no dendrograma, demonstrando divergência genéticas entre matrizes. A matriz 01 possui maior dissimilaridade genética em relação as demais. A quantificação de DNA nuclear no caju, o qual apresentou valor médio de 0,858 pg DNA/2C, não explicou a divergência fenotípica das matrizes estudadas.

PALAVRAS-CHAVE: Conservação de germoplasma, dissimilaridade genética, pseudofruto, fenotipagem, correlação fenotípica.

ABSTRACT

OLIVEIRA, VALERIA FERREIRA. Goiano Federal Institute of Education Science and Technology, Rio Verde Campus- GO, April, 2018. **Genetic diversity and evaluation of nuclear DNA content among matrices of the caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini)**. Adviser: Dr. Fabiano Guimarães Silva. Co-advisers: Dr. Paulo Sérgio Pereira, Dr.^a Maria Andreia Correa Mendonça.

The cerrado has abundant vegetation distributed in diverse areas of the world, mainly in tropical and subtropical regions. In Brazil this biome occupies 23% (2 million km²) of the territorial area. The caju-de-árvore-do-cerrado (*A. othonianum* Rizz.) of the family Anacardiaceae, is a plant with wide distribution in the Brazilian cerrado. The nut and the peduncle make up the cashew, have distinct characteristics, depending on their location. The objective of this study was to establish genetic diversity by describing the physical, chemical, physicochemical and nuclear DNA contents of the *A. othonianum*, in a population of thirty matrix trees from the northwestern goiano, municipality of Montes Claros de Goiás - Goiás. High phenotypic variability was observed, in which the peduncle presented greater variance among the morphometric data obtained. The colorimetric analysis characterized the peduncles for the variables L* (brightness), a* (red / green coordinate), b* (yellow / blue coordinate), H*_{ab} (tonality) and C*_{ab} (saturation), being the values of a * and b * the main interferers in determining the color, indicating variation from yellow to reddish. The physico-chemical analyzes, ATT (titratable total acidity), SST (total soluble solids), pH (hydrogen potential) and SST/ATT (maturation index), characterized peduncles for palatability, indicating to have acid taste, with high amount of sugar and low index of maturation. In the

determination of flavonoids and phenolics by HPLC-DAD / UV-Vis, fourteen compounds were identified: Chlorogenic Acid, Epicatechin, Orientine, Vitexin, Hesperidin, Quercetin 3-O-Glucoside, Rutin, Kaempferol-3-O-Galactoside, Quercetrin, Kaempferol-3-O-Glucoside, 3-O-arabino pyranoside, Quercetin 3-O-galactoside, Miricetin 3-O-rhamnoside and Quercetin 3-O-xylo pyranoside, however, not all compounds were identified in all matrices. With respect to the estimated correlation coefficients, the analyzed variables that presented the highest correlation and similarity in their development were L* with C*ab (0.9913**), length and mass of the nut (0.9367**) and the width of the apex with mass of the peduncle (0.9035**). Using the mean association method (UPGMA), noted that the MP, LC, SST/ATT, a*, concentration of flavonoids and pH were the main variables that contributed to the dendrogram groups formation, demonstrating genetic divergence between matrices. The matrix 01 has more distinct genetic material. The DNA nuclear quantification in the cashew, which presented an average value of 0.858 pg DNA / 2C, did not explain the phenotypic divergence of the matrices studied.

KEYWORDS: Germplasm conservation of, genetic dissimilarity, peduncle, phenotype, phenotypic correlation.

1 INTRODUÇÃO

O bioma cerrado possui vasta extensão territorial, ocupando cerca de 25% do território nacional, e localiza-se no centro do país, nos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Bahia, Paraná, Piauí, Rondônia, São Paulo, Tocantins e no Distrito Federal (Eiten, 1972). A flora do cerrado é constituída de grande variabilidade de frutos comestíveis. No entanto, alguns destes frutos nativos têm despertado interesse na agroindústria devido ao seu potencial de cooperação para a conservação e uso sustentável (Souza; Silva, 2015).

Os frutos das espécies nativas do cerrado possuem elevado valor nutricional, além de possuírem atrativos sensoriais como cor, sabor, aromas peculiares e intensos (Silva et al., 2008). Dentre as espécies do bioma Cerrado que apresentam frutos comestíveis, destaca-se o caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini), constituído do pseudofruto e do fruto (Silva et al., 2004). O pseudofruto (polpa) do caju-de-árvore-do-cerrado possui coloração do amarelo ao avermelhado, com 2 cm a 4 cm de comprimento, de peso médio de 7,15g, de sabor ácido e succulento. A polpa do pseudofruto de caju é utilizada como matéria-prima para fabricação de sucos, doces, licores e infusão em aguardentes. O fruto (castanha) do caju tem peso médio de 1,84 g, podendo ser consumida após torrada ou mesmo como importante ingrediente na culinária (Silva et al., 1994; Correa et al., 2008; Sousa, et al., 2011; Bonato et al., 2014).

Estudos relacionados ao pseudofruto de caju *Anacardium occidentale* L. indicam a presença de vários compostos antioxidantes. Os antioxidantes evitam a formação de radicais livres e já mostraram benefícios para a saúde humana como, por exemplo, prevenção de doenças como o câncer, doenças cardiovasculares e doença de Alzheimer, além de contribuírem para odores, sabores e cores específicas das plantas,

dos frutos e dos pseudofrutos (Johnson, 2012; Schweiggert et al., 2016). Compostos como flavonoides, ácido ascórbico, carotenoides e antocianinas foram identificados em pseudofrutos de caju (Assunção; Mercadantes, 2003; Schweiggert et al., 2016).

O caju-de-árvore-do-cerrado pertence à família Anacardiaceae e gênero *Anacardium*, um dos de maior importância econômica nesta família (Mitchell; Mori, 1987). Este possui ampla variabilidade fenotípica, aumentando o interesse por trabalhos de conservação e melhoramento da espécie, que levaria ao desenvolvimento de plantas com genótipos variados e de importante interesse comercial (Moyo; Van Staden, 2013).

Em diferentes espécies de cajus verifica-se alta variabilidade fenotípica, no qual ocorre variação na morfologia da planta, dos frutos e dos pseudofrutos (Castro et al., 2010). As diferenças identificadas na composição do caju são decorrentes essencialmente da espécie e subespécie, tipo de solo, do estágio de maturação e das condições climáticas (Naka et al., 2015). Sendo assim, realizar estudos que caracterizem o caju-de-árvore-do-cerrado (*A. othonianum*) em determinada população é relevante para estabelecer a diversidade genética, propiciando a possível identificação de plantas de interesse comercial.

1.1 O Bioma Cerrado

O Cerrado é um bioma abundante distribuído em diversas áreas do mundo, compreendendo-se em regiões tropicais e subtropicais. O cerrado ocupa um quinto de todo território mundial, estando distribuído na África, Austrália, América do Sul, Índia e Ásia (Mistry; Beradi, 2014). No Brasil, o Cerrado ocupa 23% (2 milhões km²) da área territorial (Figura 1) (Lopes; Guilherme, 2016). Estudos taxonômicos realizados pelo grupo Flora Brasil (BFG) (2015) sobre a biodiversidade do Brasil, identificaram o total de 12097 espécies de angiospermas existentes nas áreas de cerrado brasileiro.

A maior parte do solo no bioma Cerrado é formado por latossolos intensamente degradados e altamente restringidos na produção de alimentos, isto também se deve a sua baixa fertilidade, sendo caracterizados como ácidos, com baixa disponibilidade natural de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), zinco (Zn), etc, podendo, portanto, prejudicar o desenvolvimento da agricultura. Além do mais, este bioma possui grandes temporadas de seca, que podem durar até seis meses, com solos de baixo potencial de retenção de água. Contudo, apesar de todas estas restrições, cerca de 50% do território de cerrado é terra arável e quando submetida a

correta correção do solo torna-se adequada ao sistema de colheita-pecuária (Lopes; Guilherme, 2016).

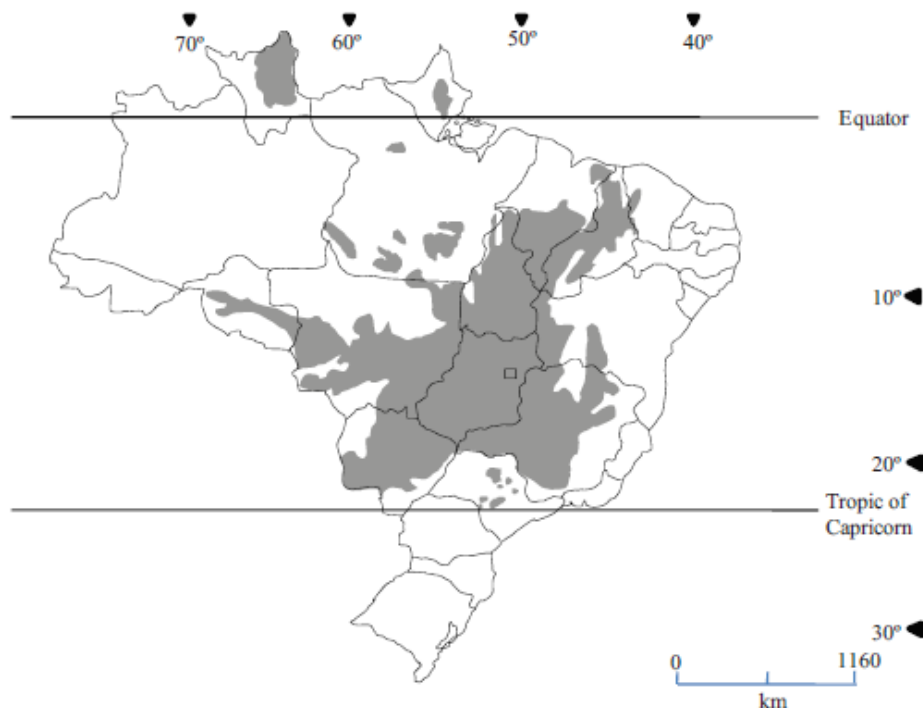


Figura 1 - Distribuição da área do bioma “Cerrado” no Brasil. Fonte: Adaptado de Lopes (1977) citado por Lopes; Guilherme (2016).

Visto que a área territorial do cerrado ocupa grande parte do território nacional não é interessante que o crescimento da agricultura ocorra muito rapidamente, abrangendo maior parte desta vegetação, visto que este feito pode proporcionar grandes prejuízos, como por exemplo, mudanças nos balanços de água, carbono, extinção de espécies nativas, erosão e distintos impactos no clima (Arantes et al., 2016; Grecchi et al., 2014). De acordo com estudos realizados por Arantes et al. (2016) a recuperação de áreas degradadas, com a realização de manejo adequado, pode proporcionar impactos positivos para o clima local e global. No entanto, se as áreas do cerrado forem bem manejadas, reflorestando e conservando suas espécies nativas, pode haver benefícios para a agricultura e para o bioma cerrado.

1.2 Caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini.)

1.2.1 Características botânicas

O caju-de-árvore-do-cerrado, também conhecido como cajuzinho e cajuí, é encontrado no bioma Cerrado, predominantemente no centro-oeste do Brasil. O

primeiro botânico a descrevê-lo foi Dr. Othon Xavier de Brito Machado e por isso ficou denominado cientificamente *Anacardium othonianum* Rizzini (Rizzini, 1969; Vieira et al., 2006).

O caju-de-árvore-do-cerrado, pertencente a mesma família e ao mesmo gênero do *A. occidentale*. Apresenta semelhança em algumas de suas características, tais como porte arbóreo, folhas coriáceas, perfil de ácidos graxos, entre outros. Com isso, alguns pesquisadores estão se referindo ao *A. othonianum* como sendo sinônimo heterotípico do *A. occidentale* (Mitchell; Mori, 1987; Costa et al., 2016).

A família Anacardiaceae, a qual pertence o caju-de-árvore-do-cerrado, compreendem 74 gêneros e 600 espécies tropicais e subtropicais, distribuídos na América tropical, África tropical ocidental e África equatorial, Madagascar, Ásia tropical, Malásia, Austrália, Micronésia, Melanésia e Polinésia. Esta família é pertencente a tribo Anacardieae e ao gênero *Anacardium*, que tem como características folhas pecioladas e simples; flores com 5 pétalas, 7-10 estames, geralmente 1 ou 2 visivelmente maiores; ovário obovoide, assimétrico, hipocarpo carnoso que segura o fruto e este é uma fruto envolta por um endocarpo rígido e fino (Tianlu; Barfod, 1980; Mitchel; Mori, 1987).

O cajueiro *A. othonianum*, tem como características árvores com porte arbóreo de 3 a 6 metros de altura, com tronco medindo de 1-2 m de altura e 20-40 cm de diâmetro. As folhas são coriáceas, medindo 12-17 cm x 8-11 cm, possuem pecíolo 4-8 mm; as flores são vermelho-rosadas e hermafroditas (Rizzini, 1969) (Figura 2).

O cajueiro é uma planta alógama, apresentando elevada heterozigose. Desta forma, para identificar diversidade em espécies com estas características é necessário que se tenha várias amostras de populações naturais. A identificação da diversidade genética pode favorecer a conservação de subespécies variadas no ecossistema, como também beneficiar o melhoramento genético da espécie (Paiva et al., 2003).

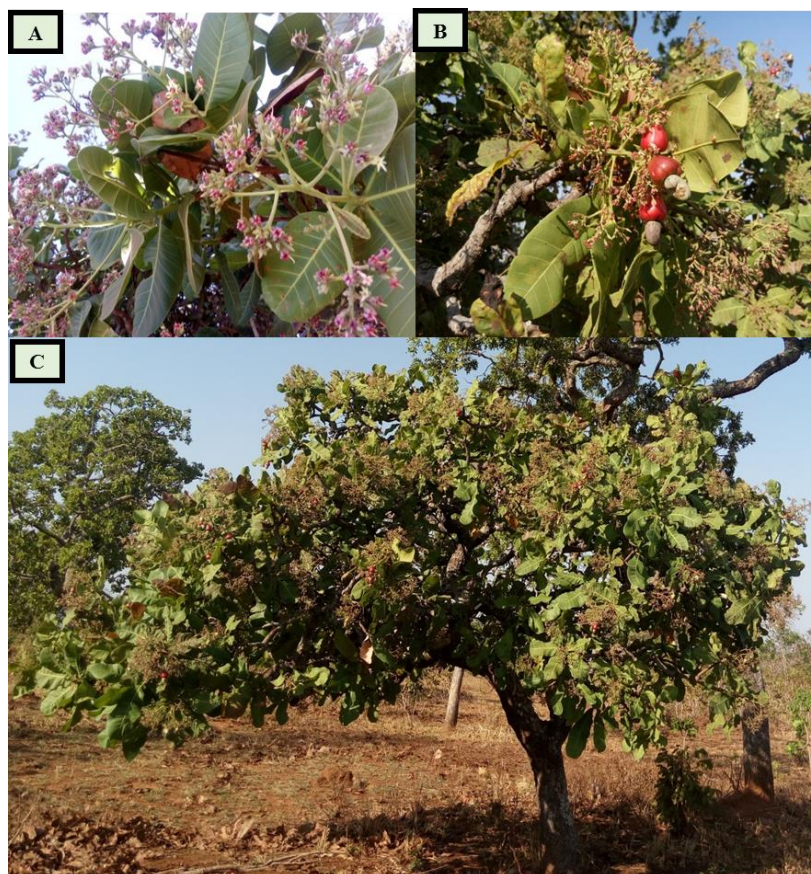


Figura 2 - Folhas e flores (A), frutos e pseudofrutos (B) e árvore (C) de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) encontrados no cerrado goiano.

1.2.2 Características físicas, químicas e físico-químicas do fruto e pseudofruto

O caju-de-árvore-do-cerrado é composto pelo fruto (castanha) e pseudofruto (polpa) (Figura 3). O fruto pode ser consumido após torrado e feita remoção do epicarpo e mesocarpo esponjoso na qual está envolvida, ou mesmo ser utilizada como ingrediente na culinária, já o pseudofruto é utilizado no preparo de sucos, doces e aguardente, além de ser consumido *in natura* (Correa et al., 2008). Correa et al. (2008) avaliando caju-de-árvore-do-cerrado (*A. othonianum*) das regiões de Hidrolândia, Luziânia, Orizona, Silvânia e Vianópolis, no estado de Goiás, observou que os frutos apresentavam peso médio de 1,84 g, com dimensões médias de 19,34 mm de comprimento, 15,39 mm de largura e 9,98 mm de espessura. Os pseudofrutos possuíam coloração do amarelo ao avermelhado, com peso médio de 7,15 g (Correa et al., 2008).



Figura 3 - Frutos de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini), com pseudofrutos de colorações amarelo (A), alaranjado (B) e vermelho (C).

O caju *A. occidentale* é o mais utilizado na indústria, isso faz com que pesquisadores tenham maior interesse em desenvolver estudos que descrevam a composição de seus frutos e pseudofrutos. Estudos realizados por Brito et al. (2007), Sivagurunathan et al. (2010), Schweiggert et al. (2016) envolveram a caracterização química do pseudofruto de *A. occidentale*. A partir desses trabalhos, concluiu-se que os pseudofrutos continham distintos flavonoides, carotenoides e elevado teor de açúcar. Características físico-químicas como acidez média de 0,2 (% ácido cítrico), pH 4,56, sólidos solúveis totais 14 (°Brix), também os qualificavam (Santos Filho, 2016).

De 2013 a 2014, a produção global de caju foi de aproximadamente 2,67 milhões de toneladas, sendo os principais produtores de caju a Índia (0,774 milhão de toneladas), a Costa do Marfim (0,480 milhão de toneladas), o Vietnã (0,267 milhão de toneladas), a Indonésia (0,144 milhão de toneladas) e o Brasil (0,134 milhão de toneladas) (Cashew Handbook, 2014; FAOSTAT, 2013; Das; Aurora, 2017).

Embora seja rico em fitoquímicos e constitua importante matéria-prima para complementar a renda dos produtores, o pseudofruto ainda não é muito valorizado comercialmente, em função da sua fácil degradação. Para reverter, o desinteresse dos produtores, estudos têm sido realizados com objetivo de desenvolver tecnologias de preservação e processamento para a valorização do pseudofruto de caju (Das; Aurora, 2017).

Em contrapartida, os frutos nativos do cerrado são relativamente pouco conhecidos e pouco consumidos, embora muito apreciados pela população regional (Costa et al., 2016).

1.3 Metabólitos Secundários

As plantas para garantir sua funcionalidade e proteção, desenvolveram rotas metabólicas como mecanismo de sobrevivência. No metabolismo primário, ocorre a síntese de compostos como glicose, ácidos orgânicos e aminoácidos, que são essenciais para que a planta permaneça viva, sendo que estes compostos são responsáveis por participar de rotas, como a respiração, que são vitais para a planta (Rojas et al., 2014).

No metabolismo secundário, ocorre a produção de compostos não menos importantes, como nitrogenados, fenólicos e terpenos, os quais proporcionam as plantas distintos mecanismos de defesa contra herbívoros e patógenos. Nos frutos, alguns metabólitos secundários, identificados como pigmentos naturais, atraem predadores que auxiliam na propagação da espécie, além de protegerem contra agentes oxidantes (Lopes et al., 2000; Silva et al., 2015). Os metabólitos secundários têm significativa importância no desenvolvimento de estratégias para aumento da tolerância do estresse da planta (Chandna et al., 2013) e na melhoria das culturas (Resham et al., 2014).

Compostos fenólicos são importantes metabólitos secundários, caracterizados pela presença de um anel aromático em sua fórmula estrutural, com uma ou mais hidroxilas substituídas, os quais podem ser encontrados em pequenas ou grandes quantidades, em variados tipos de frutos. As diferentes classes de fenólicos são identificadas pela quantidade de carbonos constituídos, os quais formam estruturas básicas iniciais em suas fórmulas (Macheix; Fleuriet; Billot, 2018). Como ocorre na classe dos flavonoides, constituídos por quinze carbonos, estruturados em dois anéis aromáticos ligados através de um anel heterocíclico (Figura 4) (Raffa et al., 2017).

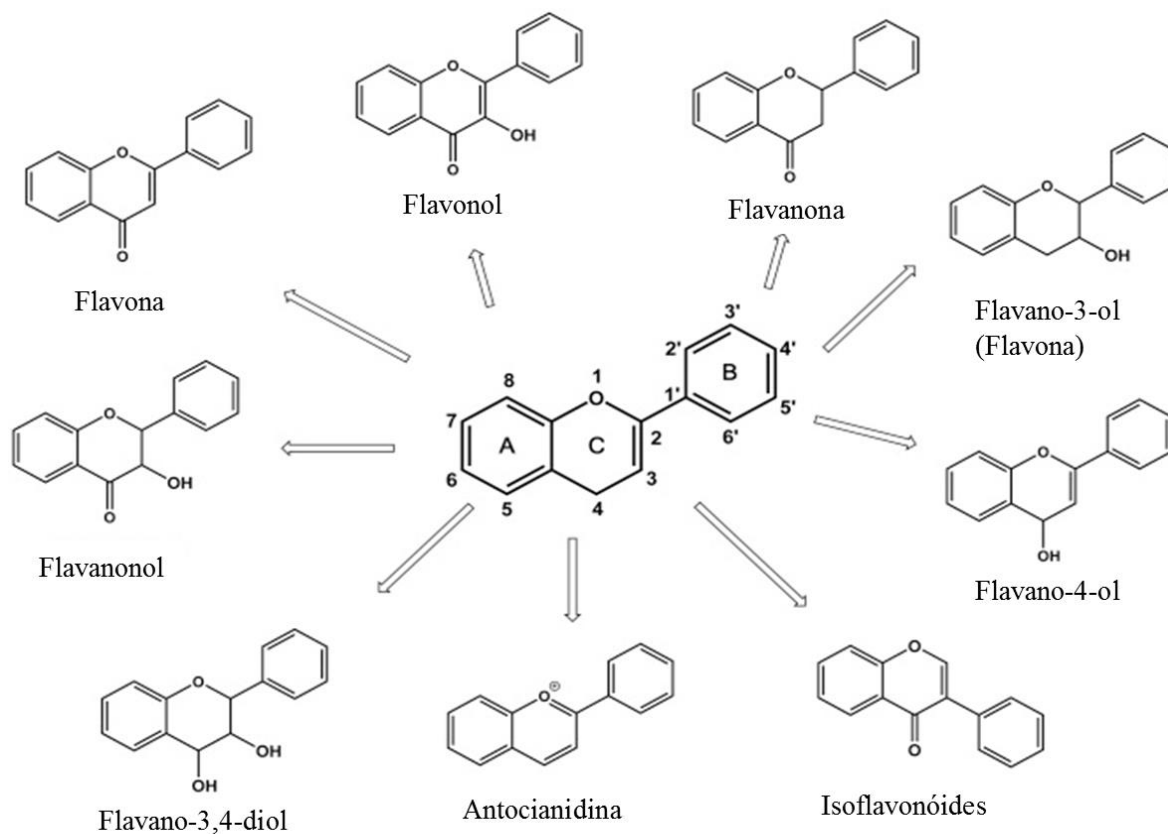


Figura 4 - Estrutura básica de flavonoides e subdivisão das diferentes classes (Raffa et al., 2017).

Os metabólitos produzidos pelas plantas proporcionam diversos benefícios para a saúde humana, como a melhora de intervenções crônicas, sendo que estes podem ser inseridos na alimentação através de alimentos naturais (Gibney et al., 2005). Os importantes benefícios proporcionados pelo consumo de metabólitos têm despertado o interesse de vários cientistas, os quais estão desenvolvendo técnicas para identificação destes compostos nos alimentos, utilizando análise de Cromatografia Líquida com Espectrômetro de Massa (LC-MS), Cromatografia Líquida com Espectrômetro de Ultravioleta Visível (LC-UV-Vis), Cromatografia Gasosa com Espectrômetro de Massa (GC-MS), Ressonância magnética nuclear (RMN) e Transformada de Fourier com Espectroscopia de infravermelho (FT-IR) (Gibney et al., 2005; Resham et al., 2014).

A composição específica de metabólitos em cada planta varia de acordo com a família e a espécie (Bennett; Wallsgrove, 1994). Então, para identificação da composição metabólica é necessário fazer a caracterização das plantas e dos frutos produzidos.

1.4 Estimativas de correlações fenotípicas

A estimativa de parâmetros genéticos são estudos de importante relevância no melhoramento genético por caracterizar o material em estudo e, principalmente, por identificar os genótipos de maior interesse comercial. Assim, partindo de uma população com distintos fenótipos, pode-se obter melhores indivíduos para serem utilizados como genitores (Cruz; Carneiro, 2003; Farias Neto et al., 2013).

Além das causas genéticas, as correlações entre duas variáveis podem ser decorrentes de causas ambientais, quando influenciadas pelas mesmas condições ambientais, tornando-se fator interferente nas diferenciações fenotípicas observadas. O ambiente pode beneficiar ou prejudicar as variáveis correlacionadas. Sendo a associação observada diretamente entre duas variáveis, uma correlação fenotípica (Cruz, 2005).

O uso de correlação propicia o conhecimento sobre o desempenho de uma variável e sua influência sobre outra (Cruz et al., 2012). Sendo importante a seleção de variáveis com alta correlação com a variável básica, a qual favorece a escolha, e assim torna a correlação, uma seleção indireta eficiente (Da Silva et al., 2016).

1.5 Diversidade Genética: Agrupamento

Diversidade genética é a medida de variação dos genes entre uma única espécie ou subespécie, identificada em uma população ou entre populações de diferentes localizações. Estudos de diversidade genética permitem caracterizar a biodiversidade existente nas regiões observadas, permitindo inferir quais os ecossistemas que estão passando por processo de degradação, quando apresentarem menores índices de diversidade (Jahnke et al., 2015).

A seleção de indivíduos no melhoramento genético em uma determinada população é possível pelos estudos de diversidade genética, que possibilitam a caracterização de genitores que proporcionam efeito heterótipo e maior segregação em recombinantes (Silva et al., 2008; Cabral et al., 2011).

Estudos de características morfológicas e/ou moleculares têm sido realizados com intuito de estimar a diversidade genética de populações (Val et al., 2014). Dessa forma, essa diversidade pode ser determinada utilizando métodos multivariados, como análises por método aglomerativo e por componentes principais, que auxiliam na avaliação simultânea de diversos caracteres avaliados (Cruz et al., 1994), promovendo a

unificação das informações e estas são expostas com características específicas de cada genótipo (Val et al., 2014).

Com os grupos formados pelas correlações existentes entre descritores ou objetos, pode-se obter a medida de dissimilaridade entre eles, por técnicas como distância euclidiana média, relacionada à homogeneidade dentro do grupo e a heterogeneidade entre os grupos formados. Os métodos de agrupamentos são associações capazes de relacionar descritores ou objetos que caracterizam distintas amostras, objetivando reuni-los em um mesmo conjunto, e assim medir as semelhanças obtidas em grandezas numéricas que quantifiquem o grau de associação (Valentin, 1995). Deste modo, para realizar o agrupamento utiliza-se métodos como: método por ligação simples, relacionados a métodos hierárquicos, formado por pares mais similares e reunindo os grupos formados em função de similaridade decrescente; método pela associação média (UPGMA), no qual a amostra é atribuída ao grupo a que ela possui maior similaridade média (ou menor distância média); entre outros (Valentin, 1995; Linden, 2009).

Estudos morfológicos, botânicos, agrônômicos e de perfil químico têm contribuído para a obtenção de dados referente à diversidade genética, principalmente quando estes são interpretados por diferentes técnicas multivariadas, a qual proporciona uma análise ampla dos dados (Silva et al., 2014; Cruz, 2016; Dos Reis et al., 2017; Abdelaali et al., 2018).

Para validação do agrupamento, utiliza-se o coeficiente de correlação cofenética (C). Este coeficiente mede o grau de preservação das distâncias emparelhadas pelo dendrograma, utilizado para avaliar a consistência do padrão de agrupamento, em relação às distâncias originais (Cruz; Carneiro, 2003).

1.6 Citometria de fluxo

A citometria de fluxo é uma ferramenta que analisa parâmetros ópticos de partículas coradas em suspensão por meio do citômetro de fluxo (Dolezel, 1997). Esta técnica envolve análise das propriedades ópticas (dispersão da luz e fluorescência) de partículas obtidas de folhas, raízes, pétalas, etc, que fluem numa suspensão líquida (Loureiro; Santos, 2005), sendo um processo relevante para estimar variabilidade em populações celulares, medindo isoladamente os atributos individuais de cada célula (Yanpaisan et al., 1999).

O citômetro é um equipamento no qual a suspensão líquida é introduzida. O fluido que envolve as partículas apresenta velocidade superior à da suspensão, e o aparelho é capaz de medir taxas máximas de 20000 células s^{-1} , garantindo que as partículas sejam selecionadas aleatoriamente em toda a população (Doležel, 1997). As partículas intersectam um feixe de iluminação, ocorrendo um processo de dispersão fotônica e/ou de emissão de fluorescência, cuja intensidade é dependente das características das partículas. Os sinais de cada partícula acumulam-se, em tempo real, na forma de histogramas mono ou biparamétricos que são visualizados no monitor de um computador. Desta forma podem-se verificar, simultaneamente, as distribuições dos valores da frequência e/ou densidade de cada parâmetro (Loureiro; Santos, 2005).

A análise da intensidade de fluorescência relativa de núcleos de tecidos de folhas jovens produz um histograma com um pico dominante correspondendo aos núcleos na fase G1 do ciclo celular e um pico menor correspondendo aos núcleos em G2. Yanpaisan et al. (1999) e Doležel et al. (2007b) mostram que a citometria de fluxo pode ser aplicada para analisar conteúdos de DNA e RNA, detectar a expressão de gene, contagem de células, estudo de cloroplastos, da atividade mitocondrial, medição da acumulação de metabólitos secundários, escolha de células particulares ou organelas subcelulares de interesse, níveis de ploidia, etc. A estimativa do tamanho do genoma por citometria de fluxo é dada em pg (picograma) de DNA ou Mbp (milhões de pares de base), em que $1 \text{ pg} = 965 \text{ Mbp}$ (Doležel, 1997).

A análise do conteúdo de DNA nuclear, por citometria de fluxo, é baseada no uso de fluorocromos de DNA específicos, medido através do nível da intensidade de fluorescência do núcleo corado, relacionado ao material de referência que tenha o tamanho de genoma conhecido (por exemplo, $\text{pg}/2C$) (Doležel et al., 2007a). A seleção do padrão adequado é crucial para a correta estimativa do tamanho do genoma nuclear (Doležel et al., 1991).

Determinações como diversidade citogenética, diversidade citológica (Castro et al., 2013), detecção de plantas mixoploides (Olftrault-Sammarcelli et al., 1994), detecção de variações somaclonais em cultura de calos (Silva; Carvalho, 2013), podem ser feitas utilizando como técnica a citometria de fluxo. Além disso, essa metodologia tem sido particularmente útil na identificação de indivíduos poliploides, explicando possíveis variações fenotípicas em plantas de uma mesma espécie, inferido pelo valor C (Yang et al., 2011).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Estimar a diversidade genética por meio de características físicas, químicas, físico-químicas e verificar o conteúdo do DNA nuclear do caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) em 30 matrizes localizadas na região do noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás – Goiás.

2.2 Específicos

- Caracterizar 30 matrizes por meio de frutos e pseudofrutos de caju-de-árvore-do-cerrado mediante a realização de análises físicas, físico-químicas e químicas;
- Correlacionar variáveis de caracterização físicas, físico-químicas e químicas obtidas, para explicar o desempenho de uma variável e sua influência sobre outra;
- Verificar a diversidade genética entre as matrizes por características físicas, físico-químicas e químicas, utilizando análises multivariadas;
- Identificar indivíduos poliploides, por realização de citometria de fluxo, podendo assim explicar as diferenças fenotípicas observadas;

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização e identificação das matrizes

Em agosto de 2016, 150 matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (*A. othonianum* Rizz.) foram selecionadas em distintas propriedades rurais na região do noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás – Goiás, colocando em cada uma delas, uma identificação com um número de referência. O cerrado é a vegetação predominante nesse município, sendo as plantas nativas consorciadas com pastagem. As matrizes selecionadas foram identificadas, fotografadas e georreferenciadas com GPS, de S16°06'12,7"W051°15'55,8" 391m até S16°08'13,7"W051°17'36,8" 580m.

3.2 Identificação da espécie

A identificação da espécie a ser trabalhada é de extrema relevância para conclusões futuras sobre o trabalho. Portanto, em setembro de 2016, das 150 plantas georreferenciadas na região do noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás – Goiás, 20 foram escolhidas, utilizando como critério de escolha a diferença no porte arbóreo e a distância entre as árvores, estando próximas (3 m) e afastadas (6000 m) uma das outras, para comparação do material e montagem das exsiccatas (Tabela 1).

Tabela 1 – Identificação do material botânico das 20 plantas selecionadas de *Anacardium othonianum* Rizzini, no Herbário IF Goiano Campus - Rio Verde.

Identificação do coletor	Identificação do Herbário IF Goiano Campus Rio Verde (Número de registro)
Planta 01	nº 525
Planta 02	nº 526
Planta 04	nº 527
Planta 05	nº 528
Planta 12	nº 529
Planta 21	nº 530
Planta 24	nº 531
Planta 110	nº 532
Planta 33	nº 533
Planta 62	nº 534
Planta 34	nº 535
Planta 56	nº 536
Planta 57	nº 537
Planta 96	nº 538
Planta 75	nº 539
Planta 76	nº 540
Planta 43	nº 541
Planta 54	nº 542
Planta 45	nº 543
Planta 61	nº 544

Após montadas, as exsicatas foram encaminhadas ao especialista Dr. José Rubens Pirani, para o Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a identificação da espécie a ser trabalhada.

3.3 Coleta e armazenamento dos frutos e pseudofrutos

Das 150 matrizes georreferenciadas em agosto de 2016, selecionou-se 30. Considerou como principais critérios para escolha a distância (no mínimo 5 metros e máximo de 6000 m, aproximadamente), maior diferença física no porte arbóreo das árvores, na estrutura física e na coloração dos frutos e pseudofrutos e o alto índice de produção, para que se pudessem obter no mínimo 50 frutos de cada (Figura 5).

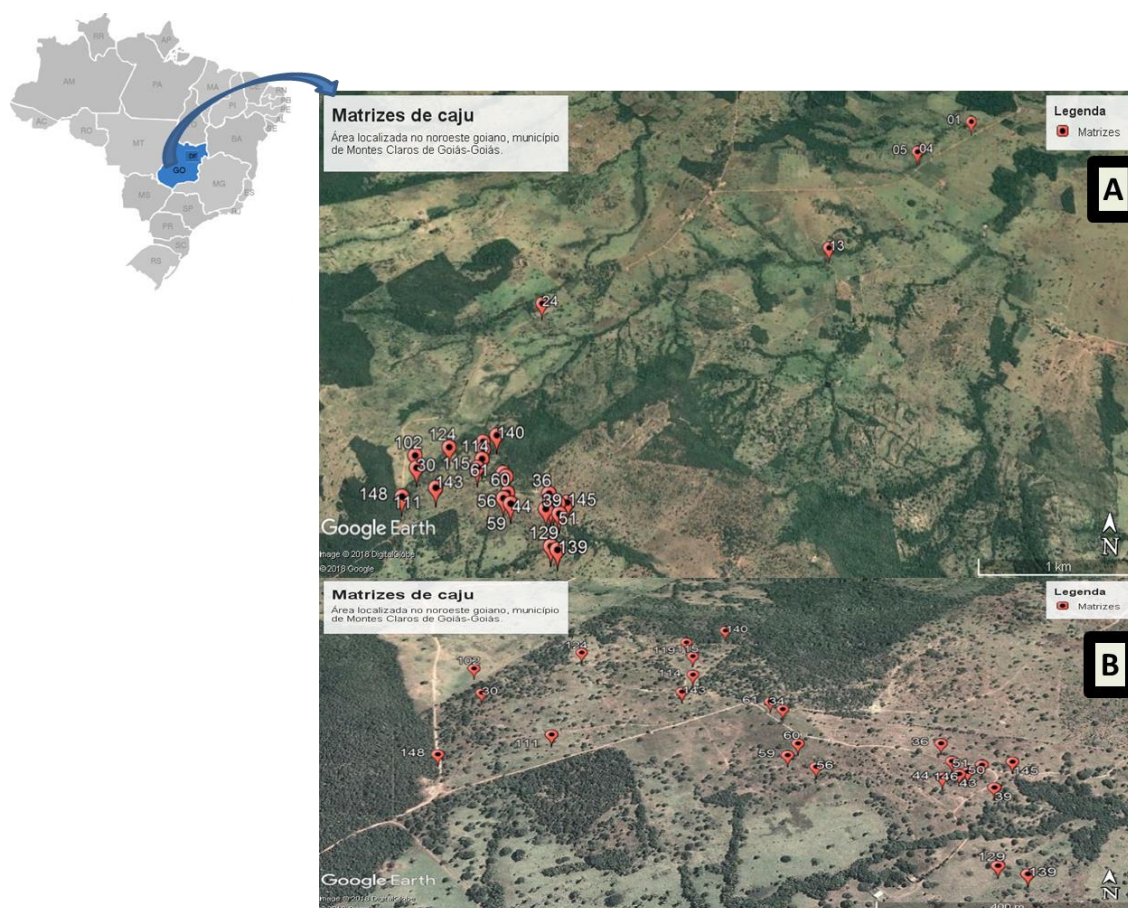


Figura 5 - Localização das trinta matrizes (A) de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini), na região do noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás-Goiás. (B) Zoom da área onde os picos ficaram mais aglomerados na figura A.

O pico de produção do caju-de-árvore-do-cerrado localizado na região georreferenciada no município de Montes Claros de Goiás– GO ocorreu entre os meses de setembro e outubro, sendo assim foram realizadas coletas no período de 08/09/2017 a 14/10/2017, nas 30 árvores selecionadas. Todo material coletado de uma mesma árvore, obtidos em dias distintos, foi homogeneizado para que a data não fosse um fator que influenciasse nas análises posteriores.

Os frutos e pseudofrutos colhidos foram armazenados em sacos plásticos e identificados com o número referente da árvore a qual pertence. Em seguida foram colocados em caixas térmicas com gelo e encaminhados para o Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde. No laboratório, os frutos e pseudofrutos foram sanitizados com Hipoclorito de sódio (NaClO) comercial a 15 ppm. Os pseudofrutos foram colocados em sacos plásticos limpos, identificados e armazenados no freezer -80°C até posteriores análises químicas. Os frutos foram

inicialmente colocadas em papel toalha para secagem, logo após foram colocados sob sílica em vasilha com tampa até atingir umidade de 10% para posterior propagação.

3.4 Caracterização física

3.4.1 Morfometria do fruto e pseudofruto

Para realização da caracterização física do fruto e pseudofruto de caju foram utilizados parâmetros dos descritores de cajueiro, estabelecidos pelo *International Board for Plant Genetic Resources* (IBPGR, 1986). Os descritores quantitativos foram sete: comprimento do fruto (CF), largura do fruto (LF), massa do fruto (MF), espessura do fruto (EF), comprimento do pseudofruto (CP), largura do ápice do pseudofruto (LAP) e massa do pseudofruto (MP). Para cada descritor analisado foram realizadas 50 medições, no qual os frutos e pseudofrutos referentes a cada árvore selecionada eram escolhidos aleatoriamente. Para as medições foi utilizado paquímetro digital profissional aço inox 150 mm, com precisão de $\pm 0,02$ mm / 100 mm, obtendo os valores em mm. A balança analítica de 120 g com precisão de $\pm 0,0003$ g foi utilizada para obtenção dos valores de massa (g).

3.4.2 Colorimetria do pseudofruto

Foram escolhidos cinco pseudofrutos de cada uma das trinta matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado. Realizaram-se três medições de cor em cada um dos pseudofrutos para que se pudesse ter um valor homogêneo das cores nos respectivos pseudofrutos de cada árvore. Utilizou-se espectrofotômetro de cor modelo ColorFlex[®] EZ 45/0 LAV, com óptica selada; matriz de diodos de 256 elementos e uma rede holográfica côncava de alta resolução; gama espectral de 400 nm-700 nm e escalas de cores medias em CIE L^* , a^* e b^* , sendo o parâmetro luminosidade de leveza L^* representado em valores de 0 a 100 (preto a branco); O índice a^* de cor vermelha e negativos para a cor verde; o índice b^* mostra valores positivos para cor amarelada e valor negativo para o azul. O Chroma (C^*_{ab}) é a saturação e representa a distância do eixo luminosidade e inicia em 0 no centro. O ângulo hue (H^*_{ab}) é o ângulo de tonalidade, começa no eixo a^* positivo e se movimentam no sentido anti-horário, sendo expresso em graus. O (H^*_{ab}) foi calculado a partir de $1/\tan(b^*/a^*)$, (C^*_{ab}) de $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ (Abdelaali et al., 2018).

3.5. Análises físico-químicas: Acidez titulável total, pH e Sólidos Solúveis Totais (°Brix)

Para realização das análises físico-químicas foram utilizadas metodologias descritas pela AOAC (2008).

Trituraram-se dez pseudofrutos de caju de cada uma das 30 matrizes selecionadas em liquidificador, para realização das análises de acidez titulável total (ATT), pH e sólidos solúveis totais (SST).

Para realização da acidez titulável total pesou-se, em triplicata, 1g da amostra triturada em um frasco Erlenmeyer de 125 mL; adicionou-se 50 mL de água destilada e 2 gotas do indicador fenolftaleína e em seguida, titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,1 N, até coloração rósea permanente. Para obtenção do valor da acidez em porcentagem a Equação 1 foi utilizada:

(Eq. 1)

$$ATT (\%) = (V * N * FC * EQAC) / 10 * P$$

Sendo:

V = volume (mL) da solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação;

N = 0,1 normalidade (N);

FC = fator de correção da solução de hidróxido de sódio;

EQAC = equivalente grama do ácido cítrico (192,12g/mol);

P = massa da amostra usada na titulação (g);

Na determinação do pH, utilizou-se um pHmetro de bancada MPA-210, calibrado com tampões 7,0 e 4,0, mediu-se o pH diretamente na mistura obtida. As leituras foram feitas em triplicata.

Para obtenção dos sólidos solúveis totais (°Brix) o refratômetro foi ajustado com algumas gotas de água destilada, colocadas sobre o prisma de medição; a linha divisória tem de coincidir, mais ou menos, com divisão zero da escala, se a água destilada estiver a 20°C. Limpou-se o prisma com água destilada e secou. Colocou 1-2 gotas do suco (à temperatura ambiente) filtrado sob o algodão diretamente sobre o prisma do refratômetro. Fez-se a leitura, expressada em °Brix. As análises foram feitas em triplicatas.

3.6 Caracterização química: Extrações de flavonoides e fenólicos

Triturou-se dez pseudofrutos de caju coletados a partir de cada uma das 30 matrizes selecionadas em liquidificador. As 30 amostras obtidas foram liofilizadas em Liofilizador Enterprise II Terroni[®] até obtenção de um pó fino.

Para extração de flavonoides, seguiu-se a metodologia realizada por Brito (2007) com algumas modificações. Procedeu-se a extração do material liofilizado (500 mg) com metanol (10,0 mL) agitando em incubadora por 2h a 210 rpm. A separação foi realizada por centrifugação a 6000 rpm durante 30 minutos. Em seguida, retirou-se 8 mL do sobrenadante. O sobrenadante foi diluído em 72 mL de água ultra pura, obtendo uma proporção de 1:9 (metanol:água) dos solventes, para que assim pudesse passar a solução obtida em coluna SupelcleanTM[®] LC-18 SPE, 500mg, objetivando a retenção dos analitos (flavonoides e fenólicos) e o descarte de interferentes (como carboidratos) (Lucci et al., 2012). Os analitos que ficaram retidos na coluna foram eluídos com 1,5 mL de metanol e colocados em vials para separação em CLAE. O procedimento para extração foi realizado em triplicata.

Padrões em diferentes concentrações foram utilizados, para construção do gráfico e obtenção da equação de regressão linear, usada para calcular suas respectivas concentrações nas amostras, quando identificados. Também foram obtidos os comprimentos de onda máximo, em espectros UV/Vis, respectivos de cada padrão, para comparação e possível identificação destes nas amostras. Os padrões e as respectivas concentrações, em mg/mL, obtidos para comparação foram: Ácido gálico (0,00625), ácido clorogênico (0,00625), epicatequina (0,015625), ácido ferúlico (0,00625), ácido rosmarínico (0,00625), quercetina (0,0078125), kaempferol (0,0078125), luteolina (0,0078125), apigenina (0,0078125), orientina (0,00625), vitexina (0,003125), isovitexina (0,003125), rutina (0,0125), quercetrina (0,015625), miricitrina (0,03125), hesperidina (0,03125), quercetina-3-O-glucosídeo (0,03125), kaempferol-3-O-galactosídeo (0,00625), kaempferol-3-O-glucosídeo (0,015625), sendo todos adquiridos da Sigma-Aldrich[®].

A análise foi executada em CLAE-DAD/UV-VIS (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada ao Detector de Arranjo de Diodo com sistema de detecção Ultravioleta/Visível) (Shimadzu[®]). A separação foi realizada com injeções de 10 µL do extrato, em coluna SUPELCOSIL[®] TM LC18 (250mmx4,6mm, 5µm), utilizando como

solvente A = H₂O ultrapura (PURELAB Option-Q/ELGA[®]) com ácido Acético 0,1% E B = MeOH (de grau HPLC, JT Baker[®]), com eluição gradiente 0-32min (10-66%B); 32-35min (66-10%B); 35-40 (10%B) e fluxo de 1,0 ml/min. Pressão 162kgf/cm². Realizou leitura em 254 nm e os espectros UV/VIS foram observados de 190 a 400 nm (Brito, 2007).

Para cálculo das concentrações (mg/g) dos analitos identificados nas amostras, foi utilizada a equação 2:

$$[\text{Concentração do analito na amostra}] = \frac{\left(\frac{\text{área do analito} - A}{B}\right) \cdot \text{diluição}}{\text{peso seco da amostra}} \quad (\text{Eq. 2})$$

Sendo:

Área do analito = Área do pico identificado no cromatograma da amostra, referente ao padrão;

A = Valor obtido na equação da regressão linear do padrão que não acompanha o x;

B = Valor obtido na equação da regressão linear do padrão que acompanha o x;

Diluição = Volume no qual a amostra foi diluída;

Peso seco = Peso seco da amostra utilizada na extração;

3.7 Citometria de fluxo para determinação do tamanho do genoma em pictogramas (pg)

As sementes coletadas das trinta árvores selecionadas foram retiradas dos pseudofrutos e secas em sílica separadamente até umidade de 10% conforme procedimento estabelecido por Assis et al. (2011), sendo a umidade inicial determinada em estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ durante 24 horas (Brasil, 1992). As sementes foram tratadas com fungicida (Derosal[®]) a 10% e, logo após, foram plantadas em tubetes contendo uma mistura de solo, casca de arroz carbonizada, solo, silagem de milho decomposta e vermiculita fina. Estes foram levados para casa de vegetação, e foram deixados por 45 dias, até que todas as plantas tivessem no mínimo 3 folhas.

O material foi encaminhado para o Laboratório de Citogenética e Citometria do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa, e foram feitas as análises de citometria de fluxo para quantificação do tamanho do genoma em pictogramas de DNA e determinação do Valor 2C para cada amostra (pg/2C).

O preparo das amostras para análise foi realizado como proposto por Galbraith et al. (1983). Para tanto, cortou-se um pequeno fragmento de folha jovem (aproximadamente 2 cm²) para cada uma das 30 mudas obtidas a partir da germinação das sementes, conforme descrito anteriormente. Também foram utilizadas três cultivares de caju comercial (*Anacardium occidentale* L.), cujas mudas foram gentilmente cedidas pela Embrapa (BRS 18, BRS 22, CPP 76). Como padrão de referência (interno e externo) para as quantificações, usou-se *Solanum lycopersicum* (2C = 2,0 pg, Praça-Fontes et al., 2011). As amostras foram processadas por meio de sucessivos cortes (*chopping*), na presença de 1,0 ml de tampão OTTO I (4,2 g de ácido cítrico monohidratado, 1 mL tween 20, ajustou volume para 200 mL com H₂O destilada, estocou a 4°C /14g de PEG 2000 (Otto, 1990; Dolozel; Gohde, 1995)) e permaneceram nesse tampão por 2 min. Após esse tempo, as amostras foram passadas por um filtro de nylon 20 µm (Partec[®]) e centrifugadas (ALCmicroCentrifugette 4214[®]) a 1100 rpm por 5 min; o sobrenadante foi descartado e acrescentou-se 100 µl de OTTO I. As amostras foram deixadas em repouso por mais 10 min e, decorrido esse tempo, acrescentou-se 1,5 mL de tampão para coloração em cada amostra na proporção 1:2 OTTO I : OTTO II (11,356g de Na₂HPO₄ / 200mL de H₂O destilada) (Otto, 1990; Dolozel e Gohde, 1995)) suplementado com 75µM de iodeto de propídeo, 50 µg/mL de RNase e 2 mM ditioneitol (DTT, Sigma[®]). As amostras foram agitadas em vortex e incubadas por 30 min no escuro. Em seguida, foram filtradas em filtro de 30 µm (Partec[®]) e levadas para a leitura no citômetro de fluxo. O citômetro de fluxo utilizado (Partec[®]Gmbh, Munster, Germany) é equipado com fonte de Laser (488 nm) e lâmpada UV (388 nm).

O conteúdo de DNA nuclear foi estimado a partir das leituras dos núcleos e G₀/G₁, de acordo com a equação 3 (Doležel, 1991):

(Eq. 3)

$$V = \left(\frac{L_1}{L_2} \right) . pg$$

Sendo:

V: valor do conteúdo de DNA nuclear 2C (pg) de caju.

L₁: leitura média do pico G₀/G₁ da amostra.

L₂: leitura média do pico G₀/G₁ do padrão.

pg: valor do conteúdo de DNA do padrão em pictogramas.

3.8 Análises genético estatísticas

Os dados foram submetidos à estatística descritiva para obter valor médio, máximo, mínimo, variância, coeficiente de variação (CV) e o desvio padrão (DP) dos dados na caracterização físico, físico-químicas e químicas dos frutos e pseudofrutos. As medidas de correlação fenotípica de Pearson (Lacey, 1973) foram obtidas com base nas médias de repetições entre as variáveis combinadas dois a dois. A importância relativa dos caracteres quantitativos para a divergência genética foi determinada pelo método de Singh (1981). Para o estudo da diversidade genética foi utilizada a distância euclidiana e o agrupamento UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages*), no qual para validação do agrupamento o coeficiente de correlação cofenético foi estimado. Para identificação de diferença significativa entre as concentrações de fenólicos e flavonoides foi utilizado o teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas com o programa R (R Development Core Team, 2006).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os espécimes foram determinados como *A. occidentale* L., pois o especialista Dr. José Rubens Pirani da USP, que identificou as exsicatas de caju-de-árvore-do-cerrado (Tabela 1) acredita que o *A. othonianum* Rizz. seja um heterotípico desta espécie, justificado pelo trabalho apresentado por Mitchell e Mori (1987), no qual sugere que o *A. occidentale* L. evoluiu originalmente nos cerrados da região central do Brasil, que anos depois foi colonizado na costa. O caju-de-árvore-do-cerrado possui nome legítimo *Anacardium othonianum* Rizzini (Silva-Luz; Pirani, 2015).

4.1 Caracterização

4.1.1 Análise morfométrica

Os frutos de caju-de-árvore-do-cerrado, das 30 matrizes selecionadas, possuíram valores de comprimento (CF), largura (LF), massa (MF) e espessura (EF) com menor variância em relação às variáveis referentes aos pseudofrutos (CP, LAP e MP) (Tabela 2). Explica-se esta diferença pelos frutos apresentarem valores mais similares entre si, não divergindo conforme o pseudofruto que apresenta diferença alta

na morfometria das diferentes matrizes, tendo como exemplo a massa referente aos pseudofrutos da matriz 1 (32,49 g) e da matriz 24 (3,82 g) (Tabela 2, Figura 6).

Tabela 2-Valores médios de variáveis morfométricas do fruto e do pseudofruto, interpretadas pelo uso de estatística descritiva, de 30 matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) localizadas no noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás – Goiás.

(Continua)

Matriz	Coordenadas Geográficas	CF (mm)	LF (mm)	MF (g)	EF (mm)	CP (mm)	LAP (mm)	MP (g)
1	16° 6'12.70"S 51°15'55.80"O 386m	19,41	15,65	1,89	11,41	46,77	38,53	32,49
4	16° 6'24.10"S 51°16'11.90"O 387m	27,00	21,57	3,93	12,65	35,16	38,74	26,95
5	16° 6'24.62"S 51°16'12.49"O 398m	34,29	26,80	6,11	13,90	35,16	38,74	26,95
13	16° 6'57.20"S 51°16'38.30"O 412m	26,12	19,65	2,91	11,37	44,04	33,92	22,15
24	16° 7'16.60"S 51°17'48.60"O 476m	19,33	15,61	1,78	11,23	21,57	19,64	3,82
30	16° 7'58.00"S 51°18'6.98"O 602m	21,45	18,10	1,92	9,48	28,64	24,06	7,98
34	16° 7'59.03"S 51°17'48.17"O 585m	24,80	19,99	3,58	13,51	29,40	33,08	17,44
36	16° 8'2.20"S 51°17'38.70"O 586m	19,99	16,10	1,75	9,73	30,72	38,03	16,76
39	16° 8'6.03"S 51°17'36.02"O 579m	24,44	19,37	3,01	11,79	36,09	27,54	13,65
43	16° 8'4.89"S 51°17'37.91"O 580m	20,27	17,36	1,91	10,03	34,36	26,51	10,78
44	16° 8'5.18"S 51°17'38.91"O 578m	25,13	21,10	3,56	12,67	26,10	24,40	7,68
50	16° 8'4.70"S 51°17'37.40"O 580m	23,98	21,35	2,87	10,62	23,54	26,63	8,90
51	16° 8'4.10"S 51°17'36.50"O 583m	21,81	17,06	2,69	13,22	44,23	27,06	15,49
56	16° 8'4.37"S 51°17'46.27"O 579m	24,53	17,96	3,06	12,06	33,00	29,13	12,92
59	16° 8'3.37"S 51°17'47.94"O 581m	20,77	17,55	2,31	11,70	26,47	28,78	10,95
60	16° 8'2.30"S 51°17'47.30"O 583m	22,25	17,88	2,79	12,79	26,19	29,75	12,29
61	16° 7'58.29"S 51°17'48.93"O 586m	23,76	19,35	2,43	10,50	22,73	27,36	8,72
102	16° 7'55.50"S 51°18'7.90"O 604m	18,36	18,74	1,73	10,11	25,61	30,77	11,16
111	16° 8'1.80"S 51°18'2.20"O 589m	17,34	17,22	1,66	11,02	30,15	30,96	14,68

Tabela 2-Valores médios de variáveis morfométricas do fruto e do pseudofruto, interpretadas pelo uso de estatística descritiva, de 30 matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) localizadas no noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás – Goiás.

(Conclusão)								
Matriz	Coordenadas Geográficas	CF (mm)	LF (mm)	MF (g)	EF (mm)	CP (mm)	LAP (mm)	MP (g)
114	16° 7'55.60"S 51°17'53.90"O 588m	20,50	16,99	1,82	9,70	24,26	25,85	8,10
115	16° 7'53.54"S 51°17'53.99"O 586m	19,60	17,67	1,96	10,25	22,78	26,67	8,28
119	16° 7'51.93"S 51°17'54.49"O 584m	20,61	16,29	1,78	10,33	22,99	26,38	8,26
124	16° 7'53.40"S 51°18'1.30"O 593m	20,40	19,01	3,02	10,06	26,89	25,54	9,76
129	16° 8'12.28"S 51°17'36.76"O 576m	19,98	16,26	1,75	9,85	23,32	25,40	8,10
139	16° 8'12.90"S 51°17'35.30"O 580m	18,22	17,61	1,70	9,45	28,27	26,24	10,57
140	16° 7'50.37"S 51°17'51.91"O 579m	20,44	18,37	2,40	11,68	26,66	29,93	12,30
143	16° 7'57.42"S 51°17'54.52"O 588m	21,23	18,87	2,52	12,33	29,55	28,00	11,16
145	16° 8'3.82"S 51°17'34.68"O 585m	19,66	18,43	1,99	9,40	22,02	24,97	7,77
146	16° 8'3.78"S 51°17'38.22"O 583m	21,54	20,31	2,58	11,41	21,32	28,12	8,56
148	16° 8'3.84"S 51°18'8.60"O 596m	21,83	20,07	2,33	9,66	34,90	24,50	10,16
Média		21,97	18,61	2,52	11,13	29,43	28,84	12,83
Mínimo		17,34	15,61	1,66	9,4	21,32	19,64	3,82
Máximo		34,29	26,8	6,11	13,9	46,77	38,74	32,49
CV(%)		15,29	12,09	36,68	11,86	23,48	16,51	51,17
Variância		11,29	5,06	0,86	1,74	47,76	22,66	43,09
DP		3,36	2,25	0,93	1,32	6,91	4,76	6,56

CF: comprimento do fruto (mm); LF: largura do fruto (mm); MF: massa do fruto (g); EF: espessura do fruto (mm); CP: comprimento do pseudofruto (mm); LAP: largura do ápice do pseudofruto (mm); MP: massa do pseudofruto (g).
CV: coeficiente de variação; DP: desvio padrão.

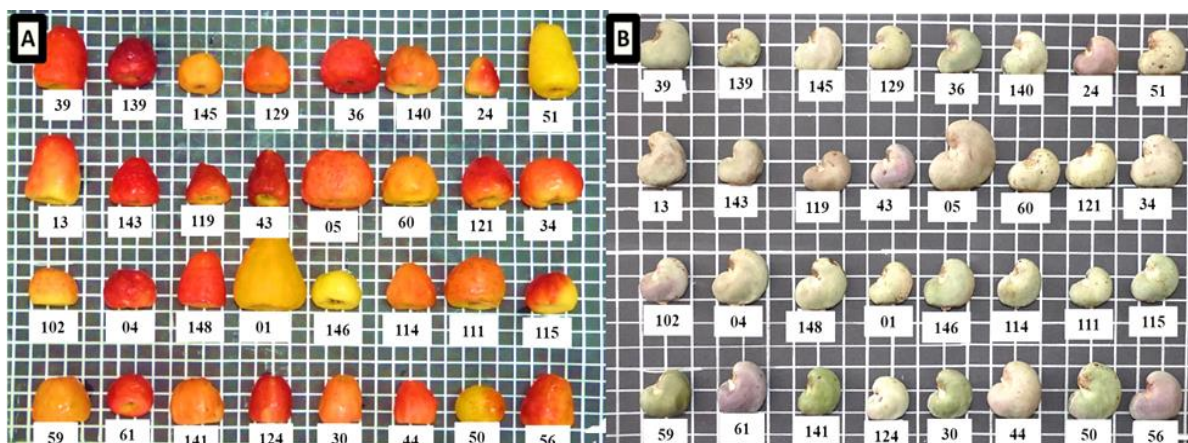


Figura 6 - Frutos de trinta matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini), pseudofruto (A) e fruto (B), coletados na região localizada no município de Montes Claros de Goiás-Goiás (os frutos das matrizes 121 e 141 mostrados na figura não foram selecionados para as análises).

Para a variável de comprimento do fruto observou-se valor médio de 21,97 mm, com valor mínimo de 17,34 mm e máximo de 34,29 mm, sendo que apenas uma matriz selecionada possuiu média de 34,29 mm, as demais possuíram valores médios entre 17,34 mm e 27,00 mm. A largura dos frutos apresentou média de 18,61 mm com valor máximo de 26,80 mm, mínimo de 15,61 mm, enquanto a espessura do fruto apresentou valor médio de 11,13 mm com valor máximo de 13,9 mm e mínimo de 9,4 mm.

Melo Filho et al. (2006), estudando fruto *A. occidentale* em nove genótipos de cajueiro anão precoce no campo experimental da Embrapa Agroindústria Tropical, em Paraipaba (Ceará), observou valores máximos de altura, largura e espessura de 35,26 mm, 28,39 mm, 20,15 mm e mínimos de 30,53 mm, 24,58 mm, 17,16 mm, respectivamente. Estes valores são maiores quando relacionados com os obtidos neste trabalho com fruto de caju *A. othonianum* Rizz.

Côrrea et al. (2008) amostrando frutos *A. othonianum* em diferentes municípios de Goiás (Hidrolândia, Luziânia, Orizona, Silvânia e Vianópolis) observaram valores médios de comprimento, largura e espessura de 19,34 mm, 15,39 mm e 9,98 mm, respectivamente. Os resultados obtidos no presente trabalhos são superiores ao trabalho reportado de Côrrea et al. (2008).

A massa do fruto apresentou valor médio de 2,52 g, variando de 1,66 g a 6,11 g. Melo Filho et al. (2006), em seu trabalho, encontraram massa do fruto de *A. occidentale*, em nove genótipos valor máximo de 8,293 g e mínimo de 6,07 g. Para esta variável, no presente trabalho a matriz 5 apresentou o maior valor (6,11 g) (Tabela 2),

sendo que os demais valores observados variaram entre 1,66 g e 3,93 g. Corrêa et al. (2008) trabalhando com *A. othonianum* obteve a média de 1,84 g na massa do fruto, corroborando com os dados obtidos neste trabalho.

Os pseudofrutos de *A. othonianum* das 30 matrizes selecionadas (Tabela 2) apresentaram comprimento médio de 29,43 mm, com valores máximo e mínimo de 46,77 mm e 21,32 mm, respectivamente. A largura do ápice do pseudofruto teve valor médio de 28,84 mm, com valor mínimo de 19,64 mm e máximo de 38,74 mm. A massa do pseudofruto teve valor médio de 12,83 g com valor mínimo de 3,82 g e valor máximo de 32,49 g.

Em dados observados por Das e Arora (2017) o pseudofruto de *A. Occidentale* apresentou comprimento variando de 40 mm a 75 mm, largura de 35 mm a 50 mm e massa de 50 g a 140 g, mostrando alta variação entre os dados, além disso, demonstram que *A. occidentale* possuem pseudofrutos com valores consideravelmente maiores, justificando sua maior utilidade na indústria alimentícia.

Corrêa et al. (2008) trabalhando com *A. othonianum* observaram massa média do pseudofruto de 7,15 g, com valor mínimo de 4,13 g e máximo de 13,11 g. No entanto, as massas dos pseudofrutos de *A. othonianum* localizada no município de Montes Claros de Goiás-Goiás, do referente trabalho, apresentaram valores maiores, sendo que apenas a matriz 24 (Tabela 2) demonstrou valor médio de 3,82 g, as demais apresentaram valores médios entre 7,68 e 32,49 g.

Santos e Santos Junior (2015) avaliando *Anacardium humile* (St. Hilaire) localizados no município de Patrocínio, Minas Gerais, observaram valor médio da massa do pseudofruto de 3,26 g, demonstrando que esta espécie possui menor massa, comparado com caju *A. othonianum* Rizz. e *A. Occidentale*.

4.1.2 Análise colorimétrica

Os pseudofrutos avaliados no presente trabalho apresentaram alta distinção nos dados colorimétricos (Tabela 3, Figura 6A). O L* apresentou valor mínimo de 33,37 e máximo de 63,93; o a* teve valor mínimo de 2,39 e máximo 35,59, o b* apresentou valor mínimo de 8,30 e máximo de 46,13.

Tabela 3 - Valores médios de colorimetria, medidas em escalas de cores medias CIE L*, a*, b*, H*_{ab} e C*_{ab} do pseudofruto de 30 matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) localizadas no noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás – Goiás.

Matriz	Coordenadas Geográficas	L*	a*	b*	H*_{ab}	C*_{ab}
1	16° 6'12.70"S 51°15'55.80"O 386m	63,93	18,43	46,13	75,80	66,53
4	16° 6'24.10"S 51°16'11.90"O 387m	48,14	23,51	14,87	35,90	53,57
5	16° 6'24.62"S 51°16'12.49"O 398m	51,03	26,96	25,01	47,61	51,10
13	16° 6'57.20"S 51°16'38.30"O 412m	51,44	17,86	21,90	56,44	51,57
24	16° 7'16.60"S 51°17'48.60"O 476m	48,33	20,06	21,63	52,40	48,43
30	16° 7'58.00"S 51°18'6.98"O 602m	39,35	10,26	15,82	63,37	39,40
34	16° 7'59.03"S 51°17'48.17"O 585m	47,15	26,94	21,01	42,17	47,16
36	16° 8'2.20"S 51°17'38.70"O 586m	38,44	24,93	8,56	21,06	38,50
39	16° 8'6.03"S 51°17'36.02"O 579m	43,38	33,88	16,61	29,02	43,42
43	16° 8'4.89"S 51°17'37.91"O 580m	41,75	20,47	9,32	27,20	41,81
44	16° 8'5.18"S 51°17'38.91"O 578m	34,97	15,69	8,30	30,98	35,02
50	16° 8'4.70"S 51°17'37.40"O 580m	36,65	11,90	12,74	52,17	36,75
51	16° 8'4.10"S 51°17'36.50"O 583m	37,90	6,28	23,59	83,44	37,93
56	16° 8'4.37"S 51°17'46.27"O 579m	46,21	19,69	18,97	48,81	46,27
59	16° 8'3.37"S 51°17'47.94"O 581m	33,37	9,41	15,69	65,61	33,50
60	16° 8'2.30"S 51°17'47.30"O 583m	57,83	11,37	26,74	74,40	57,85
61	16° 7'58.29"S 51°17'48.93"O 586m	42,21	20,60	10,40	29,76	42,27
102	16° 7'55.50"S 51°18'7.90"O 604m	38,13	10,11	16,11	64,32	38,17
111	16° 8'1.80"S 51°18'2.20"O 589m	34,97	12,63	14,06	53,41	35,08
114	16° 7'55.60"S 51°17'53.90"O 588m	45,00	14,64	15,49	51,79	45,05
115	16° 7'53.54"S 51°17'53.99"O 586m	47,44	18,28	18,23	49,91	47,49
119	16° 7'51.93"S 51°17'54.49"O 584m	37,75	20,99	9,25	26,42	37,81
124	16° 7'53.40"S 51°18'1.30"O 593m	38,66	24,09	10,45	26,06	38,76
129	16° 8'12.28"S 51°17'36.76"O 576m	49,35	19,89	18,23	47,23	49,42
139	16° 8'12.90"S 51°17'35.30"O 580m	42,16	21,13	10,11	28,41	42,21
140	16° 7'50.37"S 51°17'51.91"O 579m	38,97	10,25	13,23	58,04	39,01
143	16° 7'57.42"S 51°17'54.52"O 588m	43,15	35,59	15,60	26,30	43,19
145	16° 8'3.82"S 51°17'34.68"O 585m	34,59	10,82	12,17	53,73	34,64
146	16° 8'3.78"S 51°17'38.22"O 583m	43,02	2,39	20,32	92,55	43,10
148	16° 8'3.84"S 51°18'8.60"O 596m	35,70	14,73	10,97	40,75	35,78
Média		43,03	17,79	16,72	48,50	43,36
Mínimo		33,37	2,39	8,30	21,06	33,50
Máximo		63,93	35,59	46,13	92,55	66,53
CV(%)		16,57	43,09	45,00	38,25	17,49
Variância		50,87	58,78	56,59	344,19	57,51
DP		7,13	7,67	7,52	18,55	7,58

L: Luminosidade; a: coordenada vermelho/verde (+a indica vermelho/ -a indica verde); b: coordenada amarelo/azul (+b indica amarelo/ -b indica azul); H*_{ab}: tonalidade; C*_{ab}: saturação.

O hue (H^*_{ab}) e o chroma (C^*_{ab}) são medidas de coloração, calculados através dos dados obtidos em colorímetro (a^* e b^*). O ângulo hue (H^*_{ab}), com valor máximo de 92,55 e mínimo de 21,06, é um parâmetro que define as cores tradicionalmente como rosadas, amareladas e esverdeadas (tonalidade), expresso em graus (por exemplo, 0° é vermelho e 90° é amarelo) (Abdelaali et al., 2018). O chroma (C^*_{ab}) determina o grau de diferença em comparação com a cor cinza (pureza da cor), valores maiores são mais saturados, valores menores são menos saturados (Abdelaali et al., 2018). Observa-se na Tabela 3, o valor mínimo de 33,50 e máximo de 66,53 demonstrando a variabilidade existente para essa variável entre as matrizes amostradas, a exemplo da matriz 01 que apresentou valor três vezes superior em relação à matriz 36, visualmente observada na Figura 06.

Observou-se então divergência de cor entre pseudofrutos de algumas matrizes de caju, como entre a 01 e 36, no qual o valor de tonalidade da 01 aumentou mais de três vezes em relação ao 36. Variação esta, observada também visualmente pela figura 6 A, no qual os pseudofrutos apresentam colorações do amarelo ao vermelho (Schweiggert et al., 2016), demonstrado pelos dados colorimétricos apresentados na tabela 3, os quais justificam numericamente as variações colorimétricas.

4.1.3 Análise físico-química

Os dados referentes à ATT apresentaram valor mínimo de 0,91% e máximo de 3,02%, enquanto SST variou entre 9,60 e 13,47 °Brix (Tabela 4). Os dados referentes à razão SST/ATT apresentaram valor mínimo de 4,45 e máximo de 13,08. Essas análises básicas são importantes para caracterizar o pseudofruto em decorrência de sua acidez e quantidades de açúcares disponíveis. O pH apresentou valor mínimo de 2,83 e máximo de 3,83. Silva (2004) em trabalho com pseudofrutos de *A. othonianum*, coletados na Cidade de Goiás e Hidrolândia - Go, identificou valores de SST (12,0 °Brix) e pH (3,11) semelhantes aos obtidos no presente trabalho.

Tabela 4 -Valores médios de análise físico-químicas do pseudofruto de 30 matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) localizadas no noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás-Goiás.

Matriz	Coordenadas Geográficas	ATT (%)	SST (°Brix)	pH	Índice de maturação (SST/ATT)
1	16° 6'12.70"S 51°15'55.80"O 386m	1,94	13,37	3,03	6,91
4	16° 6'24.10"S 51°16'11.90"O 387m	2,43	12,10	3,06	4,99
5	16° 6'24.62"S 51°16'12.49"O 398m	1,36	11,50	3,04	8,47
13	16° 6'57.20"S 51°16'38.30"O 412m	0,91	11,87	3,54	13,08
24	16° 7'16.60"S 51°17'48.60"O 476m	1,10	11,67	3,54	10,57
30	16° 7'58.00"S 51°18'6.98"O 602m	1,94	12,23	3,13	6,30
34	16° 7'59.03"S 51°17'48.17"O 585m	3,02	13,47	3,83	4,45
36	16° 8'2.20"S 51°17'38.70"O 586m	1,74	12,13	3,14	6,99
39	16° 8'6.03"S 51°17'36.02"O 579m	2,40	11,80	2,83	4,91
43	16° 8'4.89"S 51°17'37.91"O 580m	1,50	10,40	3,17	6,93
44	16° 8'5.18"S 51°17'38.91"O 578m	1,97	10,90	3,14	5,53
50	16° 8'4.70"S 51°17'37.40"O 580m	1,28	11,47	3,39	8,99
51	16° 8'4.10"S 51°17'36.50"O 583m	2,24	10,97	3,09	4,89
56	16° 8'4.37"S 51°17'46.27"O 579m	1,51	10,13	2,87	6,72
59	16° 8'3.37"S 51°17'47.94"O 581m	1,06	9,60	3,09	9,06
60	16° 8'2.30"S 51°17'47.30"O 583m	2,11	11,13	2,94	5,27
61	16° 7'58.29"S 51°17'48.93"O 586m	1,74	11,27	3,08	6,46
102	16° 7'55.50"S 51°18'7.90"O 604m	2,05	11,37	3,03	5,56
111	16° 8'1.80"S 51°18'2.20"O 589m	1,27	11,17	3,24	8,77
114	16° 7'55.60"S 51°17'53.90"O 588m	1,86	12,00	3,20	6,44
115	16° 7'53.54"S 51°17'53.99"O 586m	1,74	12,03	3,19	6,93
119	16° 7'51.93"S 51°17'54.49"O 584m	1,48	10,03	3,17	6,79
124	16° 7'53.40"S 51°18'1.30"O 593m	1,32	11,97	3,20	9,07
129	16° 8'12.28"S 51°17'36.76"O 576m	1,63	12,93	3,10	7,92
139	16° 8'12.90"S 51°17'35.30"O 580m	1,96	10,83	2,87	5,52
140	16° 7'50.37"S 51°17'51.91"O 579m	2,11	10,93	3,11	5,19
143	16° 7'57.42"S 51°17'54.52"O 588m	1,96	10,73	3,17	5,48
145	16° 8'3.82"S 51°17'34.68"O 585m	1,71	10,37	3,24	6,05
146	16° 8'3.78"S 51°17'38.22"O 583m	1,35	12,03	3,29	8,88
148	16° 8'3.84"S 51°18'8.60"O 596m	1,68	12,93	3,19	7,70
Média		1,75	11,51	3,16	7,03
Mínimo		0,91	9,60	2,83	4,45
Máximo		3,02	13,47	3,83	13,08
CV(%)		26,25	8,30	6,53	27,59
Variância		0,21	0,91	0,04	3,76
DP		0,46	0,96	0,21	1,94

ATT: acidez total titulável (%); SST: sólidos solúveis totais (°Brix); pH: potencial hidrogeniônico; SST/ATT: Índice de maturação.

CV: coeficiente de variação; DP: desvio padrão.

Figueiredo et al. (2002) em análise com *A. Occidentale*, obtido no Rio Grande do Norte – Brasil, em distintos estágios de maturação, identificaram valor máximo de ATT de 0,31%, SST de 12,22 °Brix e pH de 4,94. Resultados semelhantes também foram observados por Moo-Huchin et al (2014) (ATT de 0,28-0,48%, SST 11,00) no México e por Santos Filho (2016) (ATT de 0,20 %, SST 14,00 e pH 4,56) no Pará - Brasil, mostrando semelhança entre os dados referentes ao *A. occidentale* coletados em diferentes regiões e países. Comparando com os dados referentes ao pseudofruto, do presente trabalho, nota-se valores próximos nos dados referente a SST (11,51 °Brix), já os valores referentes ao pH (3,16) são menores e os valores de ATT (1,75%) são maiores em *A. othonianum*.

O valor referente a SST/ATT de *A. occidentale* obtidos no Rio Grande do Norte – Brasil, em um bom estágio de maturação, ou seja, pronto para consumo, foi de 43,6 (Figueiredo et al., 2002). Já no presente trabalho obteve-se valor médio menor, de 7,03. Assim, o pseudofruto de *A. othonianum* caracteriza-se por possuir menor valor do índice de maturação, mesmo estando em um bom estado de maturação.

O *A. othonianum* apresenta maiores valores referente a acidez, no qual é notório o gosto ácido quando degustado. Sendo o alto valor de acidez um relevante critério na influência do sabor de frutos (Pereira et al., 2013; Moo-Huchin et al., 2014). Além do mais, a alta acidez do pseudofruto de caju impede o desenvolvimento de microrganismos.

Na caracterização de frutas em relação a níveis de ácido cítrico, os valores estipulados para comercialização estão entre 0,08% e 1,95% (Paiva et al., 1997; Moo-Huchin et al., 2014). Observa-se assim, que a maioria das matrizes estudadas neste trabalho possuem pseudofrutos no padrão estabelecido para se ter boa aceitação pelos consumidores.

4.1.4 Análise química: Determinação de flavonoides e fenólicos

Em virtude da grande quantidade de açúcar no pseudofruto, optou-se pelo método de extração utilizando coluna SPE, no qual os compostos interferentes (açúcares) foram removidos, os analitos (fenólicos e flavonoides) ficaram retidos na coluna e depois foram eluídos com solvente específico (metanol), proporcionando assim, a concentração dos analitos de interesse (Lucci et al., 2012).

A extração realizada do pseudofruto proporcionou a identificação e quantificação de distintos compostos, interpretando cromatogramas obtidos de CLAE-DAD/UV-Vis (Figura 8). Ao todo foram identificados dez compostos (Figura 7): Ácido Clorogênico, Epicatequina, Orientina, Vitexina, Hesperidina, Quercetina 3-O-Glucosídeo, Rutina, Kaempferol-3-O-Galactosídeo, Quercetrina e Kaempferol-3-O-Glucosídeo, confirmados por comparação com o tempo de retenção no cromatograma e os comprimentos de ondas de espectros UV-Vis obtidos dos padrões. A Tabela 5 mostra os picos obtidos, com seu respectivo tempo de retenção e comprimento de onda de absorção máxima (UV-Vis), com compostos que foram identificados e a classe química referente a cada um.

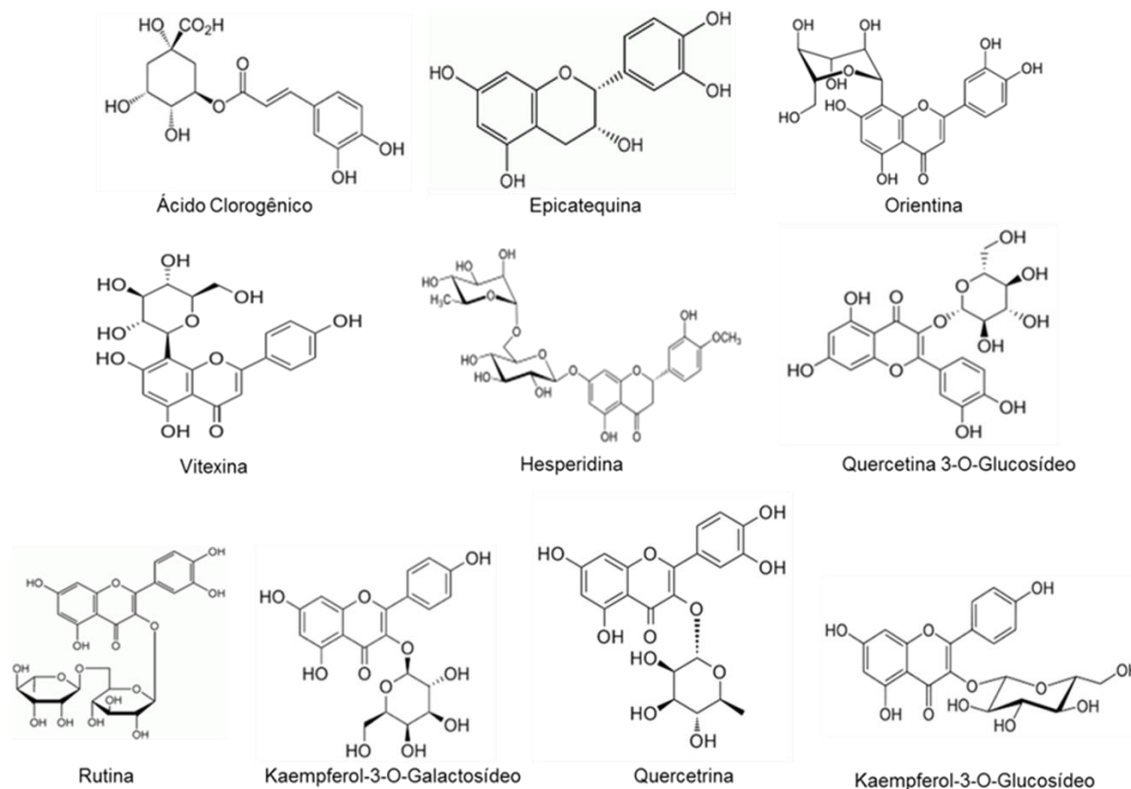


Figura 7 - Fórmulas estruturais dos compostos identificados por CLAE-DAD/UV-Vis.

rhamnosideo e a Quercetina 3-O-xylo-piranosideo possuem semelhança com o tempo de retenção e o comprimento de onda máximo de absorção (nm) UV-Vis observados neste trabalho com *A. othonianum*.

Tabela 5 - Tempo de retenção identificados em CLAE-DAD/ UV-Vis, pela extração fenólicos e flavonoides do pseudofruto de 30 matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) localizadas no noroeste goiano o, município de Montes Claros de Goiás – Goiás.

(Continua)

Nº de referencia	Tempo de retenção	Composto	Classe química	Máximos de absorção UV-Vis (nm)
1	9,02	ni		294; 348
2	13,17	ni		273
3	14,52	Ácido Clorogênico ^a	Ácido	314
4	15,381	ni		276
5	15,74	ni		257
6	15,96	ni		327
7	17,77	ni		276;353
8	17,86	Epicatequina ^a	Flavonol	276
9	21,1	ni		217;283
10	21,43	ni		282
11	21,92	ni		273
12	22,82	ni		261;299;357
13	23,09	ni		279
14	23,54	Orientina ^a	Flavonol glicosilado	254;356
15	23,59	ni		255;302; 357
16	23,68	ni		270;357
17	23,72	ni		273
18	23,82	ni		266;358
19	24,85	ni		279
20	24,85	ni		275;356
21	24,98	Vitexina ^a	Flavonol glicosilado	267;351
22	25,03	ni		255;294;352
23	25,39	Hesperidina ^a	Flavanona	278
24	25,26	Miricetina 3-O-arabino-piranosideo ^b	Flavanol glicosilado	269;352
25	25,53	ni		273;368
26	25,93	ni		255;290;356
27	25,98	Quercetina 3-O-galactosideo ^b	Flavanol glicosilado	256;354
28	26,2	Quercetina 3-O-Glucosídeo ^a	Flavanol glicosilado	255;356
29	26,21	Miricetina 3-O-rhamnosideo ^b	Flavanol glicosilado	266;354
30	26,25	ni		270;

Tabela 5 - Tempo de retenção identificados em CLAE-DAD/ UV-Vis, pela extração fenólicos e flavonoides do pseudofruto de 30 matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) localizadas no noroeste goiano o, município de Montes Claros de Goiás – Goiás.

(Conclusão)

Nº de referencia	Tempo de retenção	Composto	Classe química	Máximos de absorção UV-Vis (nm)
31	26,25	ni		255;290;356
32	26,48	ni		267;352
33	26,79	Rutina ^a	Flavanol glicosilado	257;349
34	27,1	ni		269;354
35	27,15	ni		257;356
36	27,78	Kaempferol-3-O-Galactosídeo ^a	Flavanol glicosilada	266,347
37	28,1	ni		278;348
38	28,18	ni		269
39	28,18	Quercetrina ^a	Flavanol glicosilado	256;350
40	28,23	Kaempferol-3-O-Glucosídeo ^a	Flavanol glicosilado	264;349
41	28,37	ni		273
42	28,64	Quercetina 3-O-xylopiranosídeo ^b	Flavanol glicosilado	278;348
43	29,27	ni		283
44	33,1	ni		261
45	33,15	ni		233
46	34,54	ni		237;308
47	35,26	ni		238;307
48	35,4	ni		242

ni: composto não identifica, por não possuir padrão referente ao comprimento de onda identificado.

a: identificados utilizando padrão

b: identificado por comparação (Brito et al., 2007)

A Tabela 6 mostra a concentração obtida dos compostos identificados nos pseudofrutos de *A. othonianum* das 30 matrizes selecionadas.

O ácido clorogênico foi identificado em apenas duas amostras, 50 e 115, com concentrações de 0,005 e 0,012 mg/g, respectivamente. Moo-Huchin et al. (2015) em trabalho realizado com casca de *A. occidentale* de coloração vermelha e amarelada identificou presença de ácido gálico; ácido cafeico; ácido elágico; ácido sinápico e ácido ferúlico, no entanto, sabe-se que o ácido clorogênico é precursor destes ácidos (Abrahão et al., 2009). Comparando a presença de fenólicos totais em pseudofruto de caju de distintas espécies, dentre as quais, *A. occidentale*, *A. nanum* e *A. othonianum*,

verifica-se que o pseudofruto de *A. othonianum* apresentou quantidade significativamente mais elevada que em *A. occidentale* (Rocha et al., 2011).

A vitexina e hesperidina foram identificadas no maior número de matrizes. As maiores concentrações, 0,112; 0,104; 0,122; 0,111; 0,112; 0,124 mg/g, de vitexina foram identificadas respectivamente nas matrizes 24, 60, 119, 129, 139 e 146 e as maiores concentrações de hesperidina, 0,103; 0,075; 0,102; 0,092 mg/g, foram identificadas nos pseudofrutos das matrizes 146, 143, 61 e 56, respectivamente. A vitexina possui efeitos anti-hipertensivos e anti-inflamatórios, além de proteger o coração contra lesão miocárdica, entre outras aplicações (Wang et al., 2015). Já uma das principais atuações da hesperidina é proteger contra doenças cardiovasculares (Milind; Dev, 2012).

A epicatequina foi identificada em maiores concentrações nas matrizes 24, 115 e 148 com concentrações de 0,044; 0,055 e 0,047 mg/g. A orientina foi identificada em maior concentração na matriz 04 com concentração de 0,023 mg/g. A rutina e o kaempferol-3-galactosídeo foram identificados em maiores concentrações na matriz 05 com concentração de 0,119 mg/g e 0,07 mg/g. A quercitrina teve concentração máxima de 0,049 mg/g obtida na matriz 44.

A Quercetina 3-O-Glucosídeo teve maior concentração na matriz 4 com concentração máxima de 0,013 mg/g. O Kaempferol-3-O-Glucosídeo teve concentração máxima de 0,025 e 0,022 mg/g obtida nas matrizes 24 e 102. Brito et al., (2007) identificou em pseudofruto de *A. occidentale* a concentração de 0,0144 mg/g de Quercetina 3-O-Glucosídeo, valor semelhante ao obtido neste trabalho em pseudofruto de *A. othonianum*. Gordon et al. (2012) utilizou um CLAE com sistema de detecção ESI-MS/MS para avaliar a composição de *A. occidentale* em distintos estágios de maturação, contudo obteve um perfil química de flavonoides semelhante ao obtido por Brito et al. (2007), com similares compostos identificadas neste trabalho.

Alves et al. (2017) utilizando CLAE-ESI-MS/MS identificou a presença de sete distintos flavonoides em *A. othonianum*, sendo dois deles derivados de miricetina, composto identificado também neste trabalho. Adou et al. (2012) e Moo-Huchin et al., (2015) mostraram a quantidade total de flavonoides em *A. occidentale* amarelo e vermelho, identificando concentrações maiores em frutos vermelhos. No entanto a obtenção do perfil químico de pseudofrutos de *A. othonianum* utilizando CLAE-DAD/UV-Vis realizada neste trabalho, não identificou diferença em relação às diferentes colorações observadas.

Tabela 6 - Concentração de fenólicos e flavonoides identificados em CLAE-DAD/ UV-Vis, do pseudofruto de 30 matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) localizadas no noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás-Goiás.

(Continua)

Matriz	¹ Ácido clorogênico (mg/g)	Epicatequina (mg/g)	Orientina (mg/g)	Vitexina (mg/g)	Hesperidina (mg/g)	Quercetina-3-glucosídeo (mg/g)	Rutina (mg/g)	Kaempferol-3-galactosídeo (mg/g)	Quercitrina (mg/g)	Kaempferol-3-glucosídeo (mg/g)	Flavonoides quantificados totais	Nºtotal de compostos detectados
1	nd ^C	0,024 ^B	nd ^F	0,035 ^D	0,003 ^D	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	nd ^D	0,062	19
4	nd ^C	nd ^C	0,023 ^A	nd ^E	nd ^D	0,013 ^A	0,061 ^C	0,001 ^C	nd ^C	0,015 ^B	0,113	13
5	nd ^C	0,007 ^C	nd ^F	0,063 ^C	nd ^D	nd ^B	0,119 ^A	0,07 ^A	nd ^C	nd ^D	0,259	14
13	nd ^C	nd ^C	0,018 ^B	0,038 ^D	nd ^D	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	nd ^D	0,056	14
24	nd ^C	0,044 ^A	nd ^F	0,112 ^A	0,037 ^C	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	0,025 ^A	0,218	16
30	nd ^C	nd ^C	nd ^F	nd ^E	0,051 ^B	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	nd ^D	0,051	12
34	nd ^C	nd ^C	nd ^F	0,027 ^D	nd ^D	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	nd ^D	0,027	15
36	nd ^C	nd ^C	nd ^F	0,015 ^E	nd ^D	nd ^B	nd ^D	0,01 ^B	nd ^C	nd ^D	0,025	19
39	nd ^C	nd ^C	nd ^F	0,052 ^C	0,037 ^C	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	nd ^D	0,089	14
43	nd ^C	nd ^C	nd ^F	0,059 ^C	0,056 ^B	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	nd ^D	0,115	19
44	nd ^C	nd ^C	0,011 ^E	0,064 ^C	nd ^D	nd ^B	nd ^D	nd ^C	0,049 ^A	nd ^D	0,124	16
50	0,005 ^B	0,009 ^C	nd ^F	0,069 ^C	nd ^D	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	nd ^D	0,083	20
51	nd ^C	nd ^C	0,012 ^D	0,075 ^B	nd ^D	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	nd ^D	0,087	16
56	nd ^C	0,004 ^C	nd ^F	0,073 ^B	0,103 ^A	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	0,013 ^B	0,193	19
59	nd ^C	nd ^C	nd ^F	0,044 ^D	nd ^D	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	nd ^D	0,044	16
60	nd ^C	0,013 ^C	nd ^F	0,104 ^A	nd ^D	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	nd ^D	0,117	14
61	nd ^C	0,010 ^C	nd ^F	0,066 ^C	0,075 ^A	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	0,007 ^C	0,158	15
102	nd ^C	nd ^C	nd ^F	0,088 ^B	0,022 ^C	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	0,022 ^A	0,132	18
111	nd ^C	nd ^C	nd ^F	0,038 ^D	0,013 ^D	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	nd ^D	0,051	14
114	nd ^C	0,021 ^B	nd ^F	0,066 ^C	0,049 ^B	nd ^B	0,091 ^B	nd ^C	nd ^C	0,016 ^B	0,243	22

Tabela 6 - Concentração de fenólicos e flavonoides identificados em CLAE-DAD/ UV-Vis, do pseudofruto de 30 matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) localizadas no noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás-Goiás.

(Conclusão)

Matriz	¹ Ácido clorogênico (mg/g)	Epicatequina (mg/g)	Orientina (mg/g)	Vitexina (mg/g)	Hesperidina (mg/g)	Quercetina-3-glucosídeo (mg/g)	Rutina (mg/g)	Kaempferol-3-galactosídeo (mg/g)	Quercitrina (mg/g)	Kaempferol-3-glucosídeo (mg/g)	Flavonoides quantificados totais	Nº total de compostos detectados
115	0,012 ^A	0,055 ^A	nd ^F	0,037 ^D	0,058 ^B	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	0,008 ^C	0,17	21
119	nd ^C	nd ^C	0,012 ^D	0,122 ^A	0,042 ^B	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	nd ^D	0,176	22
124	nd ^C	nd ^C	nd ^F	0,091 ^B	0,033 ^C	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	0,007 ^C	0,131	14
129	nd ^C	nd ^C	nd ^F	0,111 ^A	nd ^D	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	nd ^D	0,111	17
139	nd ^C	nd ^C	nd ^F	0,112 ^A	0,017 ^C	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	nd ^D	0,129	17
140	nd ^C	nd ^C	nd ^F	0,085 ^B	nd ^D	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	nd ^D	0,085	10
143	nd ^C	nd ^C	nd ^F	0,083 ^B	0,102 ^A	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	nd ^D	0,185	16
145	nd ^C	nd ^C	0,014 ^C	0,061 ^C	0,029 ^C	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	nd ^D	0,104	16
146	nd ^C	nd ^C	nd ^F	0,124 ^A	0,092 ^A	nd ^B	nd ^D	nd ^C	nd ^C	0,012 ^B	0,228	18
148	nd ^C	0,047 ^A	nd ^F	0,038 ^D	nd ^D	nd ^B	nd ^D	nd ^C	0,008 ^B	nd ^D	0,093	20

¹Ácido clorogênico: Único composto identificado, cuja classe química pertence aos ácidos.

Médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott, a 5% de probabilidade.

4.2 Correlações

Nos dados referentes às correlações fenotípicas entre variáveis morformétricas, observaram-se correlações positivas e significativas na maioria das estimativas, indicando, portanto, associação entre as variáveis correlacionadas (Figura 9).

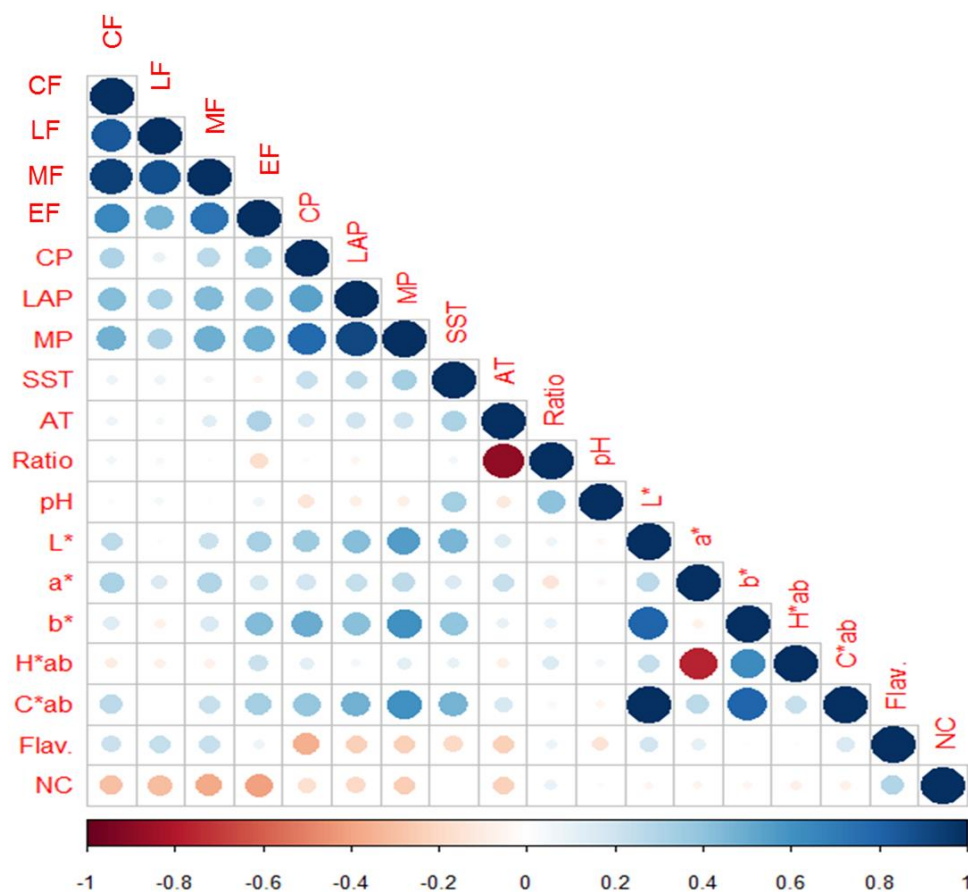


Figura 9 – Heatmap com os coeficientes de correlação de Pearson estimados por variáveis morformétricas, físico-químicas, colorimétrica e químicas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) localizados no noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás-Goiás.

CF: comprimento do fruto (mm); LF: largura do fruto (mm); MF: massa do fruto (g); EF: espessura do fruto (mm); CP: comprimento do pseudofruto (mm); LAP: largura do ápice do pseudofruto (mm); MP: massa do pseudofruto (g). ATT: acidez total titulável (%); SST: sólidos solúveis totais (°Brix); pH: potencial hidrogeniônico; Ratio (SST/ATT): índice de maturação. L: Luminosidade; a: coordenada vermelho/verde (+a indica vermelho/ -a indica verde); b: coordenada amarelo/azul (+b indica amarelo/ -b indica azul); H*ab: cores tradicionalmente como rosadas, amareladas e esverdeadas; C*ab: grau de diferença em comparação com a cor cinza; Flavonoides quantificados totais (Flav), n° total de compostos observados (NC).

Correlações observadas entre variáveis referentes aos frutos (comprimento, largura, espessura e massa) e pseudofrutos (comprimento, largura do ápice e massa) apresentaram maiores valores de estimativas (Figura 9), a saber: estimativas entre comprimento e a massa do fruto (0,9367**) e entre a largura do ápice e a massa do

pseudofruto (0,9035**). Corrêa et al. (2008), estimando correlações entre as variáveis morfológicas, comprimento, largura, espessura, massa do fruto e massa do pseudofruto, observaram menor correlação fenotípica entre as variáveis de peso do fruto e peso do pseudofruto, enquanto a maior correlação foi observada entre peso do fruto e as demais, indicando uma maior associação entre variáveis referente ao fruto. Correlações referentes aos dados morfométricos são importantes, pois indicam a seleção das melhores matrizes, considerando os principais parâmetros morfométricos de interesse agroindustrial, que são massa do fruto, da castanha, do pseudofruto e o comprimento (Santos Filho, 2016).

Considerando variáveis relacionadas à colorimetria, observaram-se correlações positivas e significativas entre b^* e as seguintes variáveis: L (0,7986**), C^*_{ab} (0,7901**) e H^*_{ab} (0,6273**), indicando, portanto, que frutos de coloração amarelada tendem a apresentar maior luminosidade, saturação e intensidade na polpa (Foster, 2011). Características colorimétricas são essenciais na seleção de pedúnculos para comercialização *in natura* (Figueiredo et al., 2002). As variáveis L, b^* e C^*_{ab} apresentaram correlações positivas e significativas com o CP (0,3583*, 0,4992**, 0,3863*), LAP (0,4293*, 0,4136*, 0,4779**) e MP (0,5545**, 0,6028**, 0,6087**), indicando que pseudofrutos com colorações mais amareladas tendem a apresentar maiores valores estruturais, corroborando com os trabalhos de Das e Aurora (2017) para *A. occidentale* (CRDI, 1996; Morton; Dowling, 1987). A estimativa de correlação entre H^*_{ab} e a^* observada foi de -0,76**, demonstrando uma relação inversamente proporcional, em que pseudofrutos mais avermelhados apresentam uma redução na tonalidade de sua cor. A maior estimativa de correlação (0,9913**) foi observada entre L^* e C^*_{ab} , indicando que a luminosidade é totalmente proporcional a saturação da cor.

Considerando as variáveis físico-químicas, observou-se estimativa positiva e significativa entre pH e SST (0,4347*) e entre pH e índice de maturação (0,4076*) demonstrando que frutos com maiores valores no pH apresentam maior índice de maturação, sendo este um importante parâmetro na determinação da maturação e da palatabilidade dos pedúnculos (Figueiredo et al., 2002). Observou-se estimativa de correlação negativa e de alta magnitude entre o índice de maturação e ATT (-0,8824**). Tal fato pode ser observado por se tratarem de variáveis inversamente proporcionais. No qual, a ATT foi o principal fator para determinar o índice de maturação, sendo característica do pedúnculo de caju-de-árvore-do-cerrado o sabor ácido. Scherer et al.

(2008) em trabalho com caju comercial observaram a presença de ácidos tartárico, málico e cítrico, responsáveis pelo sabor acidulante em frutos.

4.3 Diversidade genética

O método Singh (1981) foi aplicado para avaliar a contribuição relativa de 18 variáveis, indicando que as que mais contribuíram para a formação dos grupos, foram a massa do pseudofruto (MP) (32,08%), largura do fruto (LF) (16,95%) e o índice de maturação (SST/ATT) (13,1%) responsáveis por mais de 60%. O a^* (9,67%), total de flavonoides (9,22%) e pH (7,62%) contribuíram com mais de 25%. Já a espessura do fruto (EF) (4,05%), largura do ápice do pseudofruto (LAP) (2,78%), comprimento do pseudofruto (CP) (1,71%), número de compostos (NC) (2,60%) sólidos solúveis totais (SST) (1,11%), b^* (0,66%) e comprimento do fruto (CF) (0,43%) contribuíram pouco para a formação dos grupos. O hue (h), massa do fruto (MF), chroma (C), acidez total titulável (ATT) e L (luminosidade) não demonstraram similaridade suficiente para favorecer a formação de grupos entre as matrizes como demonstrado na Figura 10.

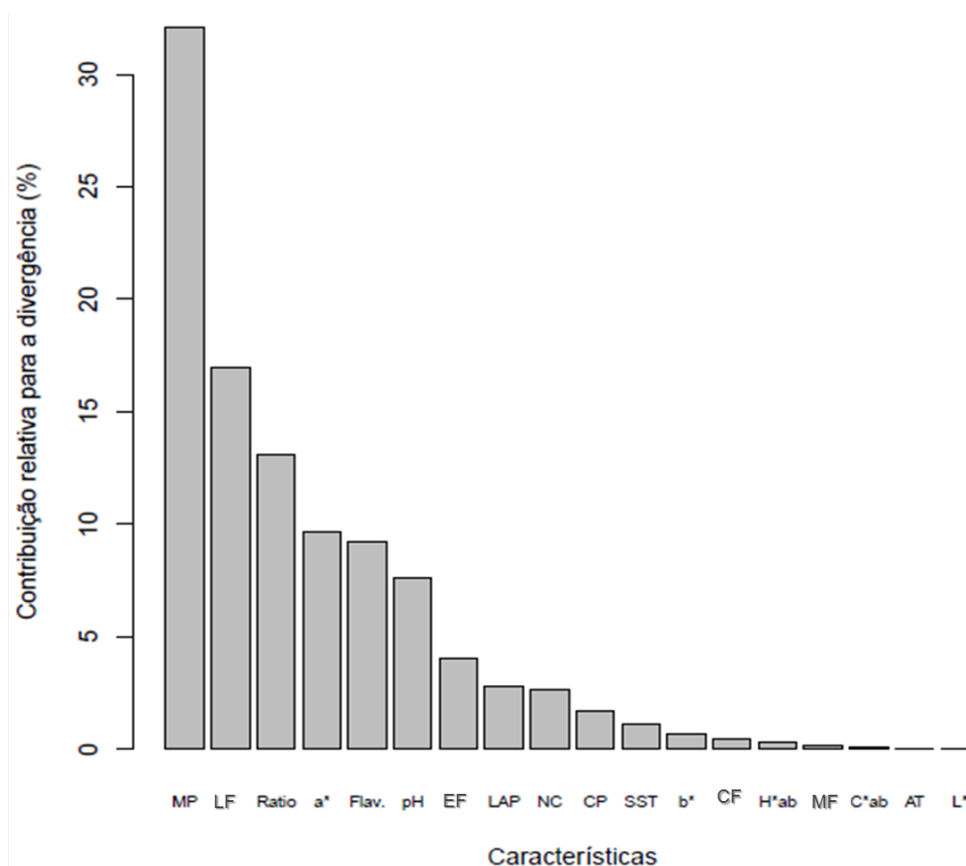


Figura 10 - Contribuição relativa das características avaliadas (%), segundo metodologia de Singh (1981), em caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini)

CF: comprimento do fruto (mm); LF: largura do fruto (mm); MF: massa do fruto (g); EF: espessura do fruto (mm); CP: comprimento do pseudofruto (mm); LAP: largura do ápice do pseudofruto (mm); MP: massa do pseudofruto (g). AT: acidez total titulável (%); SST: sólidos solúveis totais (°Brix); pH: potencial hidrogeniônico; Ratio (SST/ATT): índice de maturação; L: Luminosidade; a*: coordenada vermelho/verde (+a indica vermelho/ -a indica verde); b*: coordenada amarelo/azul (+b indica amarelo/ -b indica azul); Chorma (C); Hue (H), Flavonoides quantificados totais (Flav), n^ototal de compostos observados (NC).

A Figura 11 representa o dendrograma com as 30 matrizes de *A. othonianum*. De acordo com o ponto de corte estabelecido, foram formados quatro grupos, decorrente da dissimilaridade entre eles. O grupo I é composto apenas pela matriz 01, grupo II é formado pelas matrizes 60, 51 e 146, o grupo III é formado pelas matrizes 13, 04 e 05 e o grupo IV é formado pelas demais matrizes.

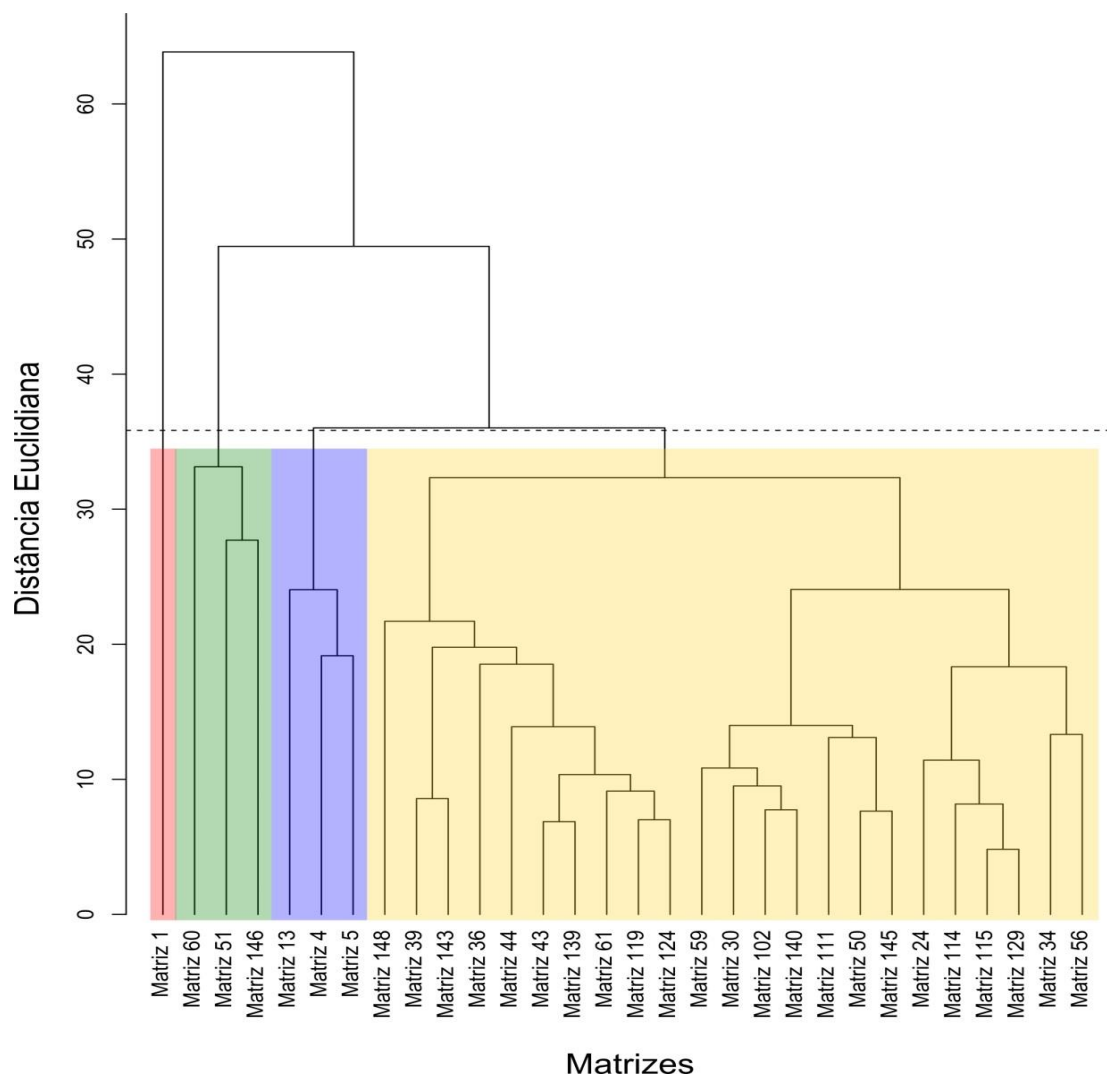


Figura 11 – Dendrograma das trinta matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) localizadas no noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás-Goiás, obtido por meio do método UPGMA considerando a distância euclidiana. Coeficiente de correlação cofenética estimado de 0,89.

A matriz 01 formou isoladamente o grupo I, possuindo a maior MP (32,49 g) e uma das menores medidas da LF (15,65 mm) (Tabela 2), mostrando ser a matriz que mais se distinguiu quanto a variáveis morfológicas da fruto e principalmente do pseudofruto. Como as porcentagens de explicação (Figura 10) do agrupamento foram maiores considerando as variáveis de MP e LF, com quase 50% no total, explica-se a distinção observada da matriz 01. Além do mais, esta foi a única matriz que apresentou maiores valores na morfometria do pseudofruto, com valores de a^* baixo e b^* alto, referente à coloração amarela.

O grupo II foi formado pelas matrizes 60, 51 e 146 demonstrando similaridade, principalmente, em relação as variáveis da LF, a^* , EF, LAP e b^* com total de

explicação de 34,11% (Figura 11). Em relação a LF, EF e LAP as matrizes deste grupo apresentaram valores médios quando comparado as demais matrizes (Tabela 2). Em relação a a^* estas apresentaram alguns dos menores valores observados e, considerando a variável b^* , apresentaram os maiores valores observados (Tabela 3). No entanto, apesar das variáveis a^* e b^* não terem sido as que apresentaram a maior porcentagem de explicação, neste grupo foram as variáveis que mais se assimilaram e as que mais se diferiram das matrizes dos outros grupos.

As matrizes 13, 04 e 05 formam o grupo III (Figura 11), as quais apresentam similaridade principalmente relacionada a morfometria das frutos e dos pseudofrutos, por possuírem alguns dos maiores valores destas variáveis que os caracterizam. Sendo a MP, LF, LP e CP as variáveis que mais demonstraram similaridade neste grupo, com o total de explicação de 53,52% (figura 10).

O grupo IV (Figura 11), formado pelo maior número de matrizes, total de 23, apresentou maior similaridade de agrupamento quando observada a LF, variando de 15,61 a 21,35 mm, distinguiu-se do grupo I e III principalmente pela MP, por estes grupos apresentaram maiores valores. A distinção observada do grupo II foi referente a diferença entre os valores de a^* e b^* , no qual os valores de a^* no grupo IV foram maiores e os valores de b^* menores.

O grupo IV foi responsável por agrupar maior número de matrizes (Figura 11), além do mais, foi o que apresentou matrizes agrupadas com a menor distância euclidiana, por possuírem similaridade em um número maior de variáveis.

A similaridade na concentração de flavonoides é fator importante de agrupamento, por apresentar valores semelhantes em algumas matrizes e distintos em outras, quando praticamente todas as outras variáveis possuem dados próximos e não são capazes de mostrar distinção.

Todas as matrizes apresentaram características próprias, com material genético divergente dos demais, podendo observar pelo agrupamento a similaridade e dissimilaridade entre os distintos materiais genéticos (Cruz; Carneiro, 2003).

Castro et al. (2010) em estudos com caju *A. othonianum*, *A. humile* e *A. occidentale*, identificou alta variabilidade fenotípica, entre e dentro das espécies. Dos Santos, Dos Santos Junior (2015) mostrou em seu trabalho alta divergência genética dentro de uma população com 38 genótipos, no qual foram realizadas analisadas morformétricas e multicategóricas. Silva et al (2014) e Rabbani et al (2012) com a

utilização de marcadores RAPD e análises multivariadas identificaram divergência genética em distintos acessos de caju.

A caracterização de um conjunto de matrizes permite escolher as que possuem maior interesse comercial, dependente de sua aplicabilidade, seja ela para o processamento do pseudofruto ou obtenção do fruto. Assim, utilizando o método UPGMA nos programas de melhoramento é possível separar genótipos potenciais para serem utilizados nos cruzamentos e desenvolvimento de cultivares produtivas (Rabbani et al, 2012).

4.4 Citometria de fluxo para determinação do tamanho do genoma em pictogramas (pg)

Apesar da alta incidência de metabólitos em folhas de *A. othonianum*, a extração de núcleos de células em folhas novas proporcionou a obtenção, em citômetro, de picos bem estruturados. O padrão de referência utilizado, *Solanum lycopersicum* L. ($2C = 2pg$ (Fontes, 2011), possibilitou a estimativa do conteúdo de DNA nuclear (tamanho do genoma), sendo este o padrão mais recomendado para a determinação do conteúdo de DNA nuclear em caju (Aliyu, 2012).

A Tabela 7 mostra os valores obtidos do conteúdo de DNA nuclear para as 30 plantas selecionadas de *A. othonianum* localizadas na região noroeste de Goiás, sendo o valor médio observado 0,858 pg/2C com coeficiente de variação (CV) (medida da integridade nuclear e variação na coloração do DNA) do pico G0/G1 (Figura 12) menor que 5%, considerada no limite de detecção para análise adequada (Carvalho et al., 2017). Os dados referentes ao *A. occidentale*, fornecido pela EMBRAPA do nordeste brasileiro, apresentaram valor média de 0,806 pg/2C também com coeficiente de variação menor que 5%.

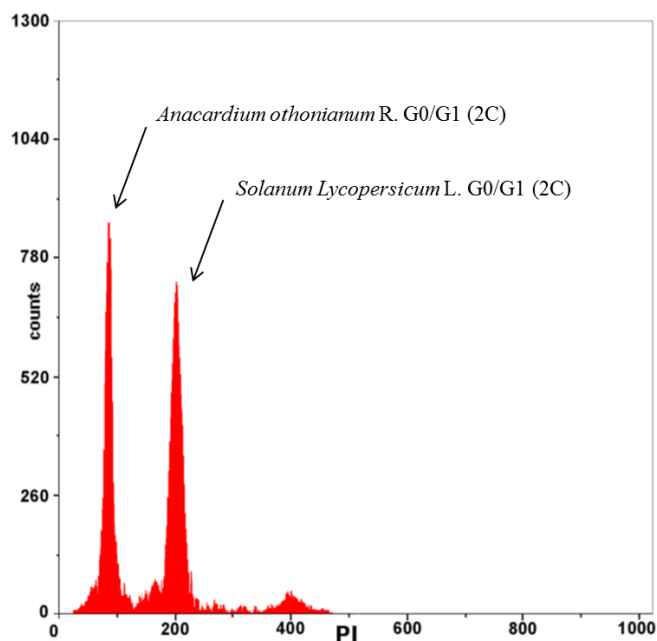


Figura 12 - Histograma representando os núcleos de caju (*Anacardium othonianum* Rizzini, matriz 36) e tomate (*Solanum lycopersicum* L., utilizado como padrão interno) corados com iodeto de propídeo.

Comparando os conteúdos de DNA nuclear dos *A. othonianum* e *A. occidentale* observou aumento somente de 5,84% nos valores referentes a *A. othonianum*, valor não significativo para mostrar diferenciação entre elas. Entre as matrizes de *A. othonianum* a variação observada foi ainda menor com coeficiente de variação de 1,54%. Em trabalho de Aliyu (2014), avaliando o conteúdo de DNA nuclear em 43 acessos de *A. occidentale* coletados em cinco localidades diferentes na Nigéria observou valor médio de 0,857 pg/2C com valor mínimo de 0,743 pg/2C e máximo de 0,899 pg/2C, valores semelhantes aos observados neste trabalho, sendo a variação geográfica um fator de pouca interferência no tamanho do genoma (Aliyu, 2014).

O caju é uma planta diploide, com o número de cromossomos variando entre $2n = 24$ e $2n = 42$ (Deckers et al., 2001; Aliyu, 2014). Durante eventos de evolução do genoma, os genes e cromossomos podem sofrer mutações numéricas e estruturais, que compreendem a deleção, a duplicação, a fusão ou quebra de cromossomos, e pode culminar em variação da ploidia na planta, ou seja, no aumento ou redução do número de conjuntos cromossômicos no núcleo da célula do indivíduo. Variações de ploidia podem ser indiretamente inferidas pelo cálculo do valor de C do conteúdo DNA nuclear, que pode ser medido por meio da citometria de fluxo (Yang et al., 2011).

A diferença de ploidia é capaz de explicar variações fenotípicas em plantas de mesma espécie, como área foliar, largura do pecíolo, comprimento do internódulo e

morfologia do pólen (Chang et al, 2018; Baker et al., 2017; Hao et al., 2016). No entanto, no presente estudo, não foram observadas diferenças no conteúdo de DNA das distintas amostras de caju analisadas. Com isso, pode-se inferir que as diferenças fenotípicas observadas nos distintos materiais estudados não podem ser explicadas pela existência de matrizes com diferentes ploidias, indicando que os materiais genéticos quando observados os valores de conteúdo de DNA nuclear, são semelhantes entre si.

Tabela 7 - Conteúdo de DNA nuclear, medido em pg(pictogramas)/2C e mpb (milhões de pares de base), obtido em citômetro, por extração de células de folhas novas de trinta matrizes de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizzini) localizadas no noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás-Goiás e de três matrizes de *Anacardium occidentale* fornecido pela EMBRAPA do nordeste brasileiro.

Matriz <i>Anacardium</i> <i>othonianum</i>	Leitu ra	pg DNA/2 C	Mpb DNA/ 2C	Matriz <i>Anacardium</i> <i>occidentale</i>	Leitu ra	pg DNA/2 C	Mpb DNA/ 2C
1	84	0,844	825	BRS 189	83	0,829	811
4	85	0,848	830	CCP 76	79	0,788	770
5	87	0,866	847	BRS 226	80	0,802	784
13	85	0,851	832				
24	83	0,829	811				
30	90	0,900	880				
34	87	0,874	855				
36	86	0,856	837				
39	87	0,866	847				
43	85	0,848	830				
44	85	0,848	830				
50	87	0,874	855				
51	86	0,864	845				
56	86	0,864	845				
59	86	0,856	837				
60	86	0,856	837				
61	87	0,874	855				
102	86	0,864	845				
111	84	0,844	826				
114	87	0,866	847				
115	86	0,856	837				
119	86	0,856	837				
124	86	0,857	838				
129	85	0,851	832				
139	86	0,856	837				
140	84	0,841	822				
143	86	0,858	840				
145	86	0,856	837				
146	84	0,841	822				
148	86	0,864	845				
Média		0,858	839			0,806	788
Mínimo		0,829	811			0,788	770
Máximo		0,9	880			0,829	811
CV(%)		1,544	20			2,60	53
Variância		0,0002	13			0,0004	20
DP		0,013	168			0,021	419

5 CONCLUSÕES

As análises físicas, químicas e físico-químicas foram relevantes na caracterização dos frutos e pseudofrutos de *A. othonianum* das 30 matrizes localizadas no noroeste goiano, município de Montes Claros de Goiás – Goiás.

A determinação de fenólicos e flavonoides possibilitaram a caracterização dos pseudofrutos quanto à sua composição, no entanto não foi capaz de demonstrar diferenciação entre as matrizes, quanto a características colorimétricas dos pseudofrutos.

A massa do pseudofruto foi a variável fenotípica que mais explicou a divergência genética identificada entre as matrizes. A matriz 01 apresentou maior dissimilaridade das demais, sendo importante quando o interesse comercial for frutos com pseudofrutos grandes e amarelados. Já quando o interesse for pseudofrutos menores, porém amarelados, o grupo II é o mais indicado. Para se escolher frutos avermelhados com pseudofrutos e frutos maiores o ideal é o grupo III, já quando se opta por pseudofrutos do alaranjado ao vermelho e menores, o grupo IV é o mais indicado.

Por meio das análises de citometria de fluxo quantificou-se o conteúdo de DNA presente no *A. othonianum* (0,858 pg DNA/2C), verificando-se que todas as matrizes analisadas não apresentaram variações de ploidia. Com isso, a hipótese de que divergência fenotípica encontrada entre as características físicas, químicas e físico-químicas dos frutos e pseudofrutos era causada por variações de ploidias não foi comprovada.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdelaali, S. B. et al. Carotenoids and colour diversity of traditional and emerging Tunisian orange cultivars (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). **Scientia Horticulturae**, v. 227, p. 296-304, 2018.

Abrahão, S. A. et al. Compostos bioativos em café integral e descafeinado e qualidade sensorial da bebida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 1799-1804, 2009.

Aliyu, O. M. Analysis of absolute nuclear DNA content reveals a small genome and intra-specific variation in Cashew (*Anacardium occidentale* L.), Anacardiaceae. **Silvae Genetica**, v. 63, p. 285-292, 2014.

Aliyu O. M. Development of the Flow Cytometric Protocol for Ploidy Analysis and Determination of Relative Nuclear DNA Content in Cashew (*Anacardium occidentale* Linn.). **American Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 2, p. 200-215, 2012.

Alves, A. M., et al . Ascorbic acid and phenolic contents, antioxidant capacity and flavonoids composition of Brazilian Savannah native fruits. **Food Science Technology**, v. 37, p. 564-569, 2017.

Arantes, A. E.; Ferreira, L. G.; Coe, M. T. The seasonal carbon and water balances of the Cerrado environment of Brazil: Past, present, and future influences of land cover and land use. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, v. 117, p. 66-78, 2016.

Assis, K. C. et al. Rendimento de explantes e estabelecimento in vitro de segmentos nodais de *Anacardium othonianum* RIZZ., oriundos de sementes armazenadas por diferentes períodos. **Global science and technology**, v. 4, n. 1, 2011.

Assunção, R. B.; Mercadante, A. Z. Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.): variety and geographic effects. **Food Chemistry**, v. 81, p. 495-502, 2003.

Baker, R. L. et al. Polyploidy and the relationship between leaf structure and function: implications for correlated evolution of anatomy, morphology, and physiology in Brassica. **BMC plant biology**, v. 17, p. 3, 2017.

BFG. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. *Rodriguésia*, v.66, p.1085-1113. 2015.

Bennett, R. N.; Wallsgrove, R. M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. **New phytologist**, v. 127, p. 617-633, 1994.

Bertan, I. et al. Comparação de métodos de agrupamento na representação da distância morfológica entre genótipos de trigo. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.12, p.279-286, 2006.

Bonatto, C. C.; Silva, L. P. Higher temperatures speed up the growth and control the size and optoelectrical properties of silver nanoparticles greenly synthesized by cashew nutshells. **Industrial Crops and Products**, v. 58, p. 46-54, 2014.

Brasil. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**, p.365, 1992.

Brito, E. S. et al. Determination of the flavonoid components of cashew apple (*Anacardium occidentale*) by LC-DAD-ESI/MS. **Food chemistry**, v.105, p.1112-1118, 2007.

C.R.D.I. Factory about the Treatment of Cashew Apple Juice in the Project on “Improve the Value of Cashew Apple”. **Report of BioChem**, p. 32, 1996.

Cabral, P. D. S. et al. Diversidade genética de acessos de feijão comum por caracteres agrônômicos. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 42, p. 898-905, 2011.

Carvalho, G. M. A.; Carvalho, C. R.; Soares, F. A. F. Flow cytometry and cytogenetic tools in eucalypts: genome size variation × karyotype stability. **Tree Genetics & Genomes**, v. 13, p. 106, 2017.

Cashew Handbook. **Global Perspective**, 2014.

Castro, A. C. R. et al. Morphological variability of cashews from the Brazilian Savannah. **XXVIII International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People : III International Symposium on 918**, p. 863-869, 2010.

Castro, S. et al. Hidden diversity in wild Beta taxa from Portugal: insights from genome size and ploidy level estimations using flow cytometry. **Plant science**, v. 207, p. 72-78, 2013.

Chandna, R.; Azooz, M. M.; Ahmad, P. Recent advances of metabolomics to reveal plant response during salt stress. In: **Salt Stress in Plants**, p. 1-14, 2013.

Chang, Lan-Yen et al. Ploidy level and their relationship with vegetative traits of mulberry (*Morus* spp.) species in Taiwan. **Scientia Horticulturae**, v. 235, p. 78-85, 2018.

Coelho, Y.A. S.; Cunha, G.A.P. **Critério de avaliação da maturação e qualidade dos frutos, com ênfase para citros e abacaxi**. EMBRAPA-CNPMF, v.1, p.1-20, 1982.

Correa, G. C. et al. Determinações físicas em frutos e sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.), cajuzinho (*Anacardium othonianum* Rizz.) e pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), visando melhoramento genético. **Bioscience Journal**, v. 24, p.42-47, 2008.

Costa, T. da S. A. et al., Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial. **Ministério do Meio Ambiente**, v. 44, p.136-149, 2016.

Cruz, C.D.; Carneiro, P.C.S. Modelos biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético. **Editores UFV**, v.2, p.585, 2003.

Cruz, C. D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, p. 271-276, 2013.

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

Cruz, C. D. **Princípios de genética quantitativa**. Universidade Federal de Viçosa, p.394, 2005.

Cruz, C. D.; Regazzi A. J.; Carneiro, P. C. S. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. . **Editora UFV**, v. 1. p.512, 2012.

Cruz, C. D.; Vencovsky, R.; Carvalho, S. P. de. Estudos sobre divergência genética. III. Comparação de técnicas multivariadas. **Ceres**, v. 41, p. 191 - 201, 1994.

Das, I.; Arora, A.. Post-harvest processing technology for cashew apple–A review. **Journal of Food Engineering**, v. 194, p. 87-98, 2017.

Da Silva, C. A. et al. Correlações fenotípicas e análise de trilha em caracteres morfoagronômicos de mamoeiro. **Revista Agro Ambiente On-line**, v. 10, p. 217-227, 2016.

Deckers, J., E. et al. Nut crops. Raemaekers, R. H. In: **Crop Production in Tropical Africa**. p. 691–715, 2001.

Doležel, J. Application of flow cytometry for the study of plant genomes. **Journal Applied Genetics**, v.38, p. 285-302, 1997.

Doležel, J. Flow cytometric analysis of the nuclear DNA content in higher plants. **Phytochem Analysis**, v.2: p.143-154, 1991.

Doležel, J.; Greilhuber, J.; Suda, J. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. **Nature protocols**, v. 2, p. 2233-2244, 2007a.

Doležel, J.; Greilhuber, J.; Suda, J. Flow Cytometry with Plant Cells: Analysis of Genes, Chromosomes and Genomes. **Chem. Listy**, v. 101, p. 923, 2007b.

Dolezel, J.; Sgorbati, S.; Lucretti, S. Comparison of three DNA fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. **Plant Physiol**, v. 85, p.625-631, 1992.

Dolozel, J.; Gohde, W. Sex determination in dioecious plants *Melandrium album* and *M. rubrum* using high-resolution flow cytometry. **Cytometry**. v.19, p.103-106, 1995.

Dos Reis, E. F. et al. Diversidade genética entre populações de guaribeiras no Estado de Goiás. **Revista Ceres**, v. 64, p. 631-636, 2017.

Eiten G. The cerrado vegetation of brazil. **The Botanical Review**, v. 38, p. 201-341, 1972.

FAOSTAT. **Statistical Databases for Agriculture**. p. 288, 2013.

Farias Neto, J. T. de; Clement, C. R.; Resende, M. D. V. de. Estimativas de parâmetros genéticos e ganho de seleção para produção de frutos em progênies de polinização aberta de pupunheira no Estado do Pará, Brasil. **Bragantia**, Campinas, v. 72, p.122-126, 2013.

Figueiredo, R. W. et al. Physical–chemical changes in early dwarf cashew pseudofruits during development and maturation. **Food chemistry**, v. 77, p. 343-347, 2002.

Foster, D. H. Color constancy. **Vision research**, v. 51, p. 674-700, 2011.

Galbraith, D. W. et al. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. **Science**, v. 220, p. 1049-1051, 1983.

Gibney, M. J. et al. Metabolomics in human nutrition: opportunities and challenges. **The American journal of clinical nutrition**, v. 82, p. 497-503, 2005.

Gordon, A., et al. Changes in phenolic composition, ascorbic acid and antioxidant capacity in cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) during ripening. **Fruits**, v. 67, p. 267-276, 2012.

Grecchi, R. C. et al. Land use and land cover changes in the Brazilian Cerrado: A multidisciplinary approach to assess the impacts of agricultural expansion. **Applied Geography**, v. 55, p. 300-312, 2014.

Guo, C. et al. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. **Nutrition Research**, v. 23, p. 1719-1726, 2003.

Hao, L. et al. Pollen morphology of herbaceous peonies with different ploidy levels. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 141, p. 275-284, 2016.

Huber, O. Neotropical savannas: their flora and vegetation. **Trends in ecology & evolution**, v. 2, p. 67-71, 1987.

IBPGR - International Board for Plant Genetic Resources. Cashew Descriptors. Rome, IBPGR, **Plant Production and Protection Division** p. 33, 1986

Instituto Adolfo Lutz. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para a análise de alimentos**. v. 4, p. 1020, 2008.

Jahnke, M.; Olsen J. L.; Procaccini, G. A meta-analysis reveals a positive correlation between genetic diversity metrics and environmental status in the long-lived seagrass *Posidonia oceanica*. **Molecular Ecology**, v. 24, p.2336-2348, 2015.

Johnson, E. J. A possible role for lutein and zeaxanthin in cognitive function in the elderly. **The American journal of clinical nutrition**, v. 96, p. 1161S-1165S, 2012.

Joseph, A., et al. Comparative studies of wine produced by spontaneous and controlled fermentation of preserved cashew (*Anacardium occidentale*) juice. **Research Journal of Biological Sciences**, v. 5, p. 460-464, 2010.

Lacey, C.N.D. Phenotypic correlations between vegetative characters and yield components in strawberry. **Euphytica**, v.22, p.546- 554, 1973.

Linden, R. Técnicas de agrupamento. **Revista de Sistemas de Informação da FSMA**, v. 4, p. 18-36, 2009.

Lopes, A. S.; Guilherme, L. R. G. A Career Perspective on Soil Management in the Cerrado Region of Brazil. **Advances in Agronomy**, v. 137, p. 1-72, 2016.

Lopes, A.S. Available water, phosphorus fixation, and zinc levels in Brazilian cerrado soils in relation to their physical, chemical, and mineralogical properties. **Department of Soil Science**, p: 189, 1977.

Lopes, R. M. et al. Flavonoides. **Biotecnologia ciência & desenvolvimento**, v. 17, p. 18-22, 2000.

Loureiro, J.; Santos, C. Aplicação da citometria de fluxo ao estudo do genoma vegetal. **Métodos em Biotecnologia – Citometria de fluxo I**, p. 18-29, 2005.

Lowor, S.T.; Agyente-Badu, C.K. Mineral and proximate composition of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) juice from Northern Savannah, forest and Coastal Savannah regions in Ghana. **American Journal of Food Technology**, v. 4, p. 154-161, 2009.

Lucci, P. et al. Current trends in sample treatment techniques for environmental and food analysis. **Chromatography-The Most Versatile Method of Chemical Analysis**, 2012.

Macheix, J.J.; Fleuriet, A.; Billot J. **Fruit phenolics**. CRC press, v. 2, p. 361, 2018.

Marc, A., et al. Phenolic profile of cashew apple juice (*Anacardium occidentale* L.) from Yamoussoukro and Korhogo (*Côte d'Ivoire*). **Journal of Applied Biosciences**, v. 49, p. 3331-3338, 2012.

Martínez-García, A. et al. Apple quality study using fringe projection and colorimetry techniques. **Optik-International Journal for Light and Electron Optics**, v. 147, p. 401-413, 2017.

McGuire, R. G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, v. 27, p. 1254-1255, 1992.

Melo Filho, Orlando Moreira de et al. Caracterização biométrica, crescimento de plântulas e pega de enxertia de novos porta-enxertos de cajueiro anão precoce. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 37, n. 3, 2006.

Milind, P.; Dev, C. Orange: range of benefits. **Int Res J Pharm**, v. 3, p. 59-63, 2012.

Minguez-Mosquera, M. I. et al. Color-pigment correlation in virgin olive oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 68, p. 332-336, 1991.

Mistry, J.; Beradi, A. **World savannas: ecology and human use**. Routledge, v:2, p 341, 2014.

Mitchell, J. D.; Mori, S. A. The cashew and its relatives. **Anacardium: Anacardiaceae), Mem. New York Bot. Gard**, v. 42, p. 1-76, 1984.

Monteiro, S. da S.; Siani, A. C. A Conservação de Exsicatas em Herbários: Contribuição ao Manejo e Preservação. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 4, p. 24-37, 2013.

Moo-Huchin, V. M. et al. Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food chemistry**, v. 152, p. 508-515, 2014.

Moo-Huchin, V. M., et al. Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food chemistry**, v. 166, p. 17-22, 2015.

Morton, J.F. **Fruits of Warm Climates**. JF Morton, p.517, 1987

Moyo, M.; Van Staden, J. Micropropagation of Anacardiaceae species of economic importance: advances and future prospects. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 49, p. 85-96, 2013.

Nagato, L. A. F. et al. Verificação do método Monter Williams otimizado na determinação de dióxido de enxofre em sucos de frutas, água de coco e cogumelo em conserva. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 72, p. 28-40, 2013.

Nugroho, A. E.; Malik, A.; Pramono, S. Total phenolic and flavonoid contents, and in vitro antihypertension activity of purified extract of Indonesian cashew leaves (*Anacardium occidentale* L.). **International food research journal**, v. 20, p.299-305, 2013.

Naka, T. et al. Assessment of some biochemical parameters of apple juices from two cashew varieties as affected by three regions of Côte d'Ivoire. **Journal of Advances in Agriculture**, v. 5, p. 621-633, 2015.

Olatidoye, O. P. et al. Optimizing the Effect of Temperature-Time Combinations on the Quality Attributes of Roasted Cashew (*Anacardium occidentale*) Kernel. **J Bioprocess Biotech**, v. 7, n. 313, p. 2, 2017.

Oliveira, V. H., Taniguchi, C. A. K., Crisostomo, L. A. Nutrição mineral do cajueiro. **rev. Ampl, Embrapa Agroindústria Tropical**, v.2, p.40, 2013.

Ollitrault-Sammarcelli, F. et al. Use of flow cytometry for rapid determination of ploidy level in the genus *Actinidia*. **Scientia horticulturae**, v. 57, p. 303-313, 1994.

Otto, F. J. DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. In: **Methods in cell biology**. Academic Press, v..33, p. 105-110, 1990.

Paiva, J. R.; Crisóstomo, J. R.; Barros, L. M. Recursos genéticos do cajueiro: coleta, conservação, caracterização e utilização. **Embrapa Agroindústria Tropical; Documentos**, v.1, p.43, 2003.

Paiva, M. C. et al. Caracterização química dos frutos de quatro cultivares e duas seleções de goiabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 19, n. 1, p. 57-63, 1997.

Pereira, M. C. et al. Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of three Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, p. 19-24, 2013.

Praça-Fontes, M. M.; Carvalho, C. R.; Clarindo, W. R. C-value reassessment of plant standards: an image cytometry approach. **Plant cell reports**, v. 30, p. 2303-2312, 2011.

R Developmente Core Team A language and environment for statistical computing. Vienna: **R Foundation for Statistical Computing**. Disponível em: <<http://www.r-project.org>>, 2006.

Rabbani, A. R. C. et al. Diversidade genética entre cajueiros comerciais. **Scientia Plena**, v. 8, p.1-9, 2012.

Raffa, D. et al. Recent discoveries of anticancer flavonoids. **European journal of medicinal chemistry**, v. 142, p. 213-228, 2017.

Ramalho, M. A. P.; Santos, J. B. dos ; Pinto, C. A. B. **Genética na Agropecuária**. 4ª Edição. Ed. Lavras, p.464, 2008.

Resham, S. et al. Metabolomics Role in Crop Improvement. **Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance**, v. 1, p. 39-55, 2014.

Rizzini, C. T. Espécies novas de árvores do Planalto Central Brasileiro. **Acad Brasil Cienc An**, 1969.

Rocha, W. S., et al. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 1215-1221, 2011.

Rojas, C. M. et al. Regulation of primary plant metabolism during plant-pathogen interactions and its contribution to plant defense. **Frontiers in plant science**, v. 5, p. 17, 2014.

Sampaio, K. L., et al. Aroma volatiles recovered in the water phase of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) juice during concentration. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, p. 1801-1809, 2011.

Santos Filho, W. L. G. Características físicas e químicas de caju (*Anacardium Occidentale*). **Tecnol. e Ciên. Agropec.**, v. 10, p.23-28, 2016.

Santos, R. C. dos; Santos Júnior, J. E. Divergência genética por análise multivariada de caracteres fenotípicos de *Anacardium humile* (St. Hilaire). **Revista Ceres**, v. 62, p. 553-560, 2015.

Schweiggert, R. M. et al. Carotenoids, carotenoid esters, and anthocyanins of yellow, orange, and red peeled cashew apples (*Anacardium occidentale* L.). **Food chemistry**, v. 200, p. 274-282, 2016.

Silva, A. V. C. et al. Diversidade genética em germoplasma de *Anacardium occidentale*. **Scientia Plena**, v. 10, p.1-8, 2014.

Silva, J. A. et al. Frutas nativas dos cerrados. **Brasília: EMBRAPA / CPAC**, p. 166, 1994.

Silva, J.O. da C. et al. Divergência genética entre populações de pessegueiro baseada em características da planta e do fruto. **Ciência Rural**, v.44, p.1770-1775, 2014.

Silva, L. R. et al. Flavonoides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta toxicológica argentina**, v. 23, n. 1, p. 36-43, 2015.

Silva, G. O. da, et al. Importância de caracteres na dissimilaridade de progênies de batata em gerações iniciais de seleção. **Bragantia**, v. 67, p. 141-144, 2008

Silva-Luz, C.L., Pirani, J.R. 2015. Anacardiaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB77853>>.

Silva, M. R. et al. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Ciência Rural**, v. 38, p. 1790-1793, 2008.

Silva, M. R.; Silva, M. S.; Oliveira, J. S. Estabilidade de ácido ascórbico em pseudofrutos de caju-do-cerrado refrigerados e congelados. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 34, p. 9-14, 2004.

Silva, T. C. R.; Carvalho, C. R. Vertical heterogeneity of DNA ploidy level assessed by flow cytometry in calli of *Passiflora cincinnata*. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 50, p. 158-165, 2014.

Singh D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, v. 41, p. 237-245, 1981.

Sivagurunathan, P.; Sivasankari, S.; Muthukkaruppan, S.M. Characterisation of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) fruits collected from Ariyalur District. **Bio sci. Res.**, v. 1, p. 101-107, 2010.

Scherer, R.; Rybka, A. C. P.; Godoy, H. T. Determinação simultânea dos ácidos orgânicos tartárico, málico, ascórbico e cítrico em polpas de acerola, açaí e caju e avaliação da estabilidade em sucos de caju. **Química Nova**, v.31, p.1137-1140, 2008.

Sousa, A. G. O. et al. Nutritional quality and protein value of exotic almonds and nut from the Brazilian Savanna compared to peanut. **Food Research International**, v. 44, p. 2319-2325, 2011.

Souza, P. L. C.; Silva, M. R. Quality of granola prepared with dried caju-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz) and baru almonds (*Dipteryx alata* Vog). **Journal of food science and technology**, v. 52, p. 1712-1717, 2015.

Tianlu, M.; Barfod, A. Anacardiaceae. In: Cheng Mien & Ming Tien lu, eds., **Fl. Reipubl. Popularis Sin**, v.11. p. 66–135, 1980.

Trox, J., et al. Bioactive compounds in cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) kernels: effect of different shelling methods. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, p. 5341-5346, 2010.

Val, B. H. P. et al. Diversidade genética de genótipos de soja por meio de caracteres agromorfológicos. **Ciência & Tecnologia Fatec-JB**, v. 6, p. 72-83, 2014.

Valentin, J.L. Agrupamento e ordenação. **Oecologia brasiliensis**, v. 2, p. 2, 1995.

Vieira, R. F. et al. Frutas nativas da região Centro-Oeste. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, v.1, p. 320, 2006.

Yang, X. et al. Genomic aspects of research involving polyploid plants. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 104, p. 387-397, 2011.

Yanpaisan, W.; King, N.J.C.; Doran, P. M. Flow cytometry of plant cells with applications in large-scale bioprocessing. **Biotechnology advances**, v.17, p. 3-27, 1999.

Wang, Y. et al. Vitexin protects brain against ischemia/reperfusion injury via modulating mitogen-activated protein kinase and apoptosis signaling in mice. **Phytomedicine**, v. 22, p. 379-384, 2015.