



ALINE DAS GRAÇAS DE SOUZA

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR,
CITOGENÉTICA E SELEÇÃO DE ESPÉCIES DE
MYRTACEAE RESISTENTES AO NEMATÓIDE
*Meloidogyne enterolobii***

LAVRAS-MG

2011

ALINE DAS GRAÇAS DE SOUZA

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, CITOGÊNÉTICA E SELEÇÃO
DE ESPÉCIES DE *MYRTACEAE* RESISTENTES AO NEMATÓIDE**

Meloidogyne enterolobii

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora

Dra. Luciane Vilela Resende

LAVRAS - MG

2011

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Souza, Aline das Graças de.

Caracterização molecular, citogenética e seleção de espécies de mirtaceae resistentes nematóide *Meloidogyne enterolobii* / Aline das Graças de Souza. – Lavras : UFLA, 2011.

119 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

Orientador: Luciane Vilela Resende.

Bibliografia.

1. Conteúdo de DNA. 2. Teor foliar. 3. Portas-enxerto. 4. Cultivar. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 634.42

ALINE DAS GRAÇAS DE SOUZA

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, CITOGENÉTICA E SELEÇÃO
DE ESPÉCIES DE *MYRTACEAE* RESISTENTES AO NEMATÓIDE**

Meloidogyne enterolobii

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 18 de julho 2011.

Dr. José Carlos Fachinello	FAEM/UFPEL
Dra. Vânia Helena Techio	UFLA
Dr. Rafael Pio	UFLA
Dr. Vicente de Paula Campos	UFLA

Dra. Luciane Vilela Resende
Orientadora

LAVRAS - MG
2011

Ao meu Filho Gabriel

Te amo Muito

OFEREÇO.

*Ao Prof. Dr. José Carlos Fachinello, pelo apoio, ensinamento e carinho,
principalmente pelo companheirismo desde que nos conhecemos*

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser meu guia e companheiro em momentos de escuridão, concedendo-me saúde e perseverança durante a minha caminhada.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Agricultura, pela oportunidade de realizar o curso de mestrado e doutorado, pela estrutura, pelos serviços prestados pelos funcionários, e em especial pela secretaria Marli Túlio (Pós- graduação Fitotecnia)

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

A Profa. Dra. Luciane Vilela Resende (DAG/UFLA), pela orientação, confiança, ensinamentos, compreensão e pela agradável convivência.

Aos Professores Dr. José Carlos Fachinello e Dr. Moacir Pasqual agradeço de forma especial pela paciente orientação em todos esses anos, pela confiança depositada em mim, por sua amizade, ensinamentos, carinho e pelo exemplo de pessoa e profissional que pretendo seguir ao longo de minha vida.

Ao Prof. Dr. Valdemar Faquin (DCS/UFLA), que acreditou em mim, proporcionando a oportunidade de desenvolver atividades de pesquisas no departamento ciência do solo. Pessoa muito simples mesmo tendo a ciência, principalmente Nutrição Mineral de Plantas, um profissional exemplar e a tranquilidade de um verdadeiro educador. A quem tenho grande admiração.

Às Professoras Dra. Rosimar dos Santos Musser (UFRPE) e Prof^a. Dra. Luiza Suely Sêmen Martins (UFRPE), por despertar e incentivar meu interesse pelo trabalho do doutorado pelas correções realizadas no trabalho, contribuindo muito no aprendizado acadêmico e acima de tudo, pela nossa valiosa amizade.

À Profa. Dra. Vânia Helena Techio pela disponibilização das estruturas do laboratório de citogenética do Departamento de Biologia e pela orientação,

ensinamentos, incentivos e confiança depositada em mim e agradável convivência.

Ao Prof. Dr. Vicente de Paula Campos pelos ensinamentos, amizade, esclarecimentos e idéias e disponibilização das estruturas do laboratório de Fitopalogia.

Ao Prof. Dr. Rafael Pio pelas várias vezes em que solicitei o auxílio e fui prontamente atendida e pela nossa amizade.

Ao meu orientador do mestrado Dr. Nilton Nagib Jorge Chalfun pelos ensinamentos, compreensão, amizade e pela participação na qualificação.

A todos os professores, colegas e funcionários do laboratório de citogenética e fitopatologia pelos ensinamentos e agradável convivência.

Quero agradecer todo o pessoal do laboratório de sementes pelas animadas conversas e ensinamentos em especial Isabela que me auxiliou para a realização do trabalho de molecular e pela valiosa amizade. Adorei ter conhecido vocês espero não perder o contato.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Agricultura e ao curso de pós-graduação em Fitotecnia; pela agradável convivência, paciência, brigas, viagens, doação de material e principalmente pelo amor e sincera amizade durante todos esses anos agradeço a todos os meus amigos: no Departamento de Agricultura, Departamento Ciência do Solo, Departamento Biologia e Departamento da fitopatologia. Não citarei nomes para evitar cometer o clássico erro de esquecimento da última hora. Cada um de vocês tem consciência da importância que tiveram e tem em minha vida, tanto pessoal como profissional e isto já foi, vem sendo e será manifestado ao longo de nossas vidas. Lamento não poder levar todos comigo, mas saibam que vou estar sempre com vocês, esteja onde estiver, pois os amigos são a família que escolhemos...

Aos meus amigos e companheiros de todas as horas, Filipe, Penoni e Ademária pela convivência e cumplicidade, pelas risadas, bons e maus

momentos pelos quais passamos durante toda esta árdua caminhada no mestrado e doutoramento.

A toda a minha família, em especial aos meus pais e minhas irmãs e irmãos, Ademária, Adânia, Adeel, Antonio Dias por todo o esforço dispensado de todas as maneiras possíveis e impossíveis e às renúncias pelas quais passaram para me verem chegar aonde cheguei. Sem o amor e o apoio de vocês isto hoje não seria possível...

É muito difícil agradecer a todos que de alguma maneira participaram direta ou indiretamente do meu amadurecimento, tanto pessoal como profissional e espero não ter sido injusto com ninguém.

Muito obrigado a todos vocês por tudo!

Nestes momentos, vejo o quanto é difícil, muitas vezes mais difícil até mesmo do que escrever uma tese... Muitos falam que é escrever uma tese, mas, em minha opinião, mais difícil mesmo é agradecer a todos que de alguma maneira estão envolvidos neste processo...

Em resumo, ao escrever uma tese:

Você vive, você aprende

Você ama, você aprende

Você chora, você aprende

Você perde, você aprende

Você sangra, você aprende

Você grita, você aprende

Você lamenta, você aprende

Você se engasga, você aprende

Você ri, você aprende

Você escolhe, você aprende

Você reza, você aprende

Você pergunta, você aprende

Você vive, você aprende

(Alanis Morissette)

“Eu não podia imaginar as coisas que me aconteceriam, o início foi incerto, confuso e incomum, onde todos os estranhos faziam parte da minha vida, onde todos os cantos teriam histórias escondidas. Aqui passei os melhores anos de minha vida, fiz amigos, muitos dos quais, me acompanharão para sempre. Por isso tenho que comemorar!

Esse é um momento especial! É hora de olhar para trás e ver por tudo o que já passei. Sem dúvida, muitas tristezas e conflitos, mas, felizmente, por inúmeros bons momentos, de alegria, de vitórias e de cumplicidade.

Devo esquecer aqueles que me impuseram obstáculos infundados e agradecer àqueles que me impulsionaram adiante. “É hora, mais do que nunca, de valorizar as amizades e os conhecimentos adquiridos aqui.”

“Despedida” - autor desconhecido

“Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha, é porque cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra. Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha, e não nos deixa só, porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós. “Essa é a prova de que as pessoas não se encontram por acaso.”

Charles Chaplin

RESUMO

A goiabeira, *Psidium guajava* L. e o araçazeiro *Psidium* sp. são fruteiras tropicais típicas da América Latina e Caribe. Pertencem à família *Myrtaceae* que compreende cerca de 100 gêneros e 3.500 espécies. A exploração comercial de plantas de goiabeira (*P. guajava*) é afetada por problemas fitossanitários, com destaque ao parasitismo do nematóide *Meloidogyne enterolobii*, o qual é responsável pela inviabilização do cultivo em áreas altamente infestadas, causando migração da cultura para novas áreas. Pois é sabido que a presença desse patógeno no sistema radicular das plantas, além de diminuir a produção, apresenta-se declínio generalizado da planta, com sintomas nas raízes (galhas e apodrecimento) e na parte aérea (bronzamento, amarelecimento, queima dos bordos e queda das folhas). Na primeira parte deste trabalho, objetivando melhor conhecimento a respeito da reação do nematóide *M. enterolobii* encontrado associado a fruteiras de clima subtropical, foram avaliados 11 genótipos de *Psidium*, ssp, alguns acessos mantidos no *campus* da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e outros acessos na região próxima ao município de Lavras (MG). Quatro meses depois, avaliaram-se o teor foliar de macro e micronutrientes e grau de infecção de cada genótipo. Dos 11 acessos avaliados; cinco foram resistentes e seis foram suscetíveis a *M. enterolobii*. Os teores foliares de macro e micronutrientes seguiram um equilíbrio nos acessos com FR < 1. Na segunda parte deste trabalho, visando fornecer subsídios para o entendimento da incompatibilidade dos acessos de *Psidium* resistente a *M. enterolobii*, determinaram-se o número cromossômico e o conteúdo de DNA de 16 acessos de *Psidium* sp. (aráçazeiro) e dois acessos de *P. guajava* (goiabeira). A variação intra-específica do conteúdo de DNA (2C) foi da ordem de 9x, com 2n = 22 observado em somente uma espécie de *P. guajava*. As demais espécies apresentaram variações no nível de ploidia em relação à x = 11. Em algumas espécies, a variação interespecífica de 2C apresentou relação direta com o nível de ploidia. A terceira parte deste teve por objetivo a caracterização molecular de acessos de *Psidium* passíveis de serem utilizados como portas-enxerto para a goiabeira. Verificou-se que a técnica de marcadores RAPD permitiu identificar a diversidade entre os acessos de goiabeiras e araçazeiros, indicando considerável variabilidade genética entre os materiais estudados.

Palavras-chave: Nematóide. Conteúdo de DNA. Teor foliar. Portas-enxerto. Cultivar

ABSTRACT

The guava tree, *Psidium guajava* L. and araçá *Psidium* sp. Are tropical fruit-bearing trees typical to Latin America Latina and Caribbean. They belong to the family Myrtaceae which comprehends about 100 genera and 3,500 species. The commercial business of guava plants (*P. guajava*) is affected by phyto-sanitary problems, standing out the parasitism by the nematodes *Meloidogyne enterolobii*, which are responsible by the unfeasibility of the crop in highly infested areas, causing migration to new areas. For, it is known that the presence of those pathogens on the root system of the plants, in addition to decreasing yield, shows a generalized decline of the plant, with symptoms on the roots (knot-root and rotting) and on the shoot (bronzamento, yellowing, border burning and leaf fall). In the first part of this work, aiming at better knowledge about the reaction of the nematode *M. enterolobii* found associated with subtropical fruit-bearing trees, 11 genotypes were evaluated; some accessions kept on the Universidade Federal de Lavras (UFLA) campus and other accessions in the region close to the town of Lavras (MG). Four months later, the leaf content of both macro and micronutrients and infection degree of each genotype were evaluated. Out of the 11 accessions evaluated; five were resistant and six were susceptible to *M. enterolobii*. The contents of macro and micronutrients followed a balance in the accessions with $FR > 1$. In the second part of this work, aiming to afford subsidies to the understanding of the incompatibility of the accessions of *Psidium* resistant to *M. enterolobii*, the chromosome number and DNA content of 16 accessions of *Psidium* sp.(araçazeiro) and two accessions of *P. guajava* (guava tree) were determined. The intra-species variation of the DNA content (2C) was of the order of 9x, with $2n = 22$ observed inn only one *P. guajava* species. The other species presented variations at the ploidy level in relation to $x = 11$. In a few species, the inter-species variation of 2C showed direct relationship with ploidy level. The third part of this work aimed at the molecular characterization of accessions of *Psidium* liable to be utilized as rootstocks for the guava tree. It was found that the RAPD markers technique allowed to identify the diversity among the accessions of guava tree and araçazeiros, indicating a marked genetic variability among the materials studied.

Keywords: Nematodes. DNA content. Foliar. Rootstocks. Cultivate.

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 2

Tabela 1	Número total de ovos (J2), fator de reprodução (FR) e reação (R=resistente; S=suscetível) em raízes de portas-enxerto de araçazeiro e goiabeira inoculados com <i>Meloidogyne enterolobii</i>	63
Tabela 2	Teores foliares de macro nutrientes (g/kg^{-1}) de portas-enxerto de goiabeira e araçazeiro, aos 120 dias após a inoculação com <i>Meloidogyne enterolobii</i>	65
Tabela 3	Teores foliares de micronutrientes (mg/kg^{-1}) de portas-enxerto de goiabeira e araçazeiro, aos 120 dias após a inoculação com <i>Meloidogyne enterolobii</i>	66
Tabela 4	Comparação dos teores foliares de macro (g/kg^{-1}) e micronutrientes (mg/kg^{-1}) de genótipos controle, sem inoculação e com inoculação a <i>Meloidogyne enterolobii</i> analisados aos 120 dias.....	67
Tabela 5	Comparação de teores foliares de macro (g/kg^{-1}) de genótipos controle, sem inoculação e com inoculação a <i>Meloidogyne enterolobii</i> analisados aos 120 dias.....	68
Tabela 6	Comparação de teores foliares de micro (mg/kg^{-1}) de genótipos controle, sem inoculação e com inoculação a <i>Meloidogyne enterolobii</i> analisados aos 120 dias.....	69
Tabela 7	Médias de teores foliares de macro (g/kg^{-1}) e micronutrientes (mg/kg^{-1}) de genótipos controle, sem inoculação <i>Meloidogyne enterolobii</i> analisados aos 120 dias.....	70
Tabela 8	Teores foliares de macro nutrientes (g/kg^{-1}) e micronutrientes (mg/kg^{-1}) em ordem decrescente de goiabeira e araçazeiro das plantas controle, sem inoculação com <i>M. enterolobii</i> analisados aos 120 dias.....	71
Tabela 9	Teores foliares de macro nutrientes (g/kg^{-1}) e micronutrientes (mg/kg^{-1}) em ordem decrescente de goiabeira e araçazeiro, aos 120 dias após a inoculação com <i>Meloidogyne enterolobii</i>	72

CAPITULO 3

Tabela 1	Acessos de <i>Psidium</i> utilizados nos experimentos de conteúdo de DNA e contagem cromossômica visando os fatores de incompatibilidade.....	83
Tabela 2	Conteúdo médio de DNA nuclear (pg) e número cromossômico em espécies de <i>Psidium</i>	86

CAPITULO 4

Tabela 1	Acessos de goiabeira e araçazeiro resistente e susceptível ao <i>M. enterolobii</i> utilizados no experimento de caracterização molecular visando à diversidade genética.....	103
Tabela 2	Produtos resultantes das reações de amplificação de DNA de acessos de <i>Psidium</i> com base nos marcadores RAPD.....	105

LISTA DE FIGURAS

	CAPITULO 3	
Figura 1	Metáfases mitóticas e histogramas do conteúdo de DNA nuclear dos acessos de goiabeira (<i>Psidium guajava</i>) e araçazeiro (<i>Psidium</i> sp.) Barra: 5µm.....	88
Figura 2	Metáfases mitóticas e histogramas do conteúdo de DNA nuclear dos acessos de goiabeira (<i>Psidium guajava</i>) e araçazeiro (<i>Psidium</i> sp.) Barra: 5µm.....	89
Figura 3	Metáfases mitóticas e histogramas do conteúdo de DNA nuclear dos acessos de goiabeira (<i>Psidium guajava</i>) e araçazeiro (<i>Psidium</i> sp.) Barra: 5µm.....	90
	CAPITULO 4	
Figura 1	Dendrograma baseado na análise de marcadores RAPD em nove acessos de <i>Psidium</i> , sp, calculado pelo método UPGMA.....	108
Figura 2	Dendrograma baseado na análise de marcadores RAPD em nove acessos de <i>Psidium</i> , sp, calculado pelo método UPGMA.....	110
Figura 3	Dendrograma baseado na análise de marcadores RAPD em 13acessos de <i>P.guineense</i> , calculado pelo método UPGMA..	112
Figura 4	Dendrograma baseado na análise de marcadores RAPD em cinco acessos de <i>P.guajava</i> , calculado pelo método UPGMA.....	113

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1	17
1	INTRODUÇÃO GERAL	18
2	REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1	Considerações gerais das culturas	21
2.2	Importância econômica do araçazeiro	22
2.3	Origem, Historia e Botânica do araçazeiro	24
2.4	Importância econômica da goiabeira	27
2.5	Origem, historia e botânica da goiabeira	29
2.6	Nematóide	31
2.7	Marcadores moleculares	37
2.8	Tamanho do genoma e número cromossomo	39
	REFERÊNCIAS	44
	CAPÍTULO 2 RESISTÊNCIA DE GOIABEIRAS E ARAÇAZEIROS A <i>Meloidogyne enterolobii</i>	54
1	INTRODUÇÃO	57
2	MATERIAL E MÉTODOS	59
2.1	Material vegetal	59
2.2	Preparo do inoculo	60
2.3	Inoculação com o nematóide <i>M. enterolobii</i>	60
2.4	Avaliação e análises dos dados	61
2.5	Obtenção da matéria seca	62
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
4	CONCLUSÕES	74
	REFERENCIAS	75
	CAPÍTULO 3 NÚMERO CROMOSSÔMICO E CONTEÚDO DE DNA NUCLEAR EM <i>Psidium ssp.</i> RESISTENTES E SUSCETÍVEL A <i>Meloidogyne enterolobii</i>	78
1	INTRODUÇÃO	81
2	MATERIAL E MÉTODOS	83
2.1	Material vegetal	83
2.2	Preparação das suspensões nucleares para a citometria de fluxo	84
2.3	Contagem cromossômica	85
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	86
4	CONCLUSÕES	94
	REFERÊNCIAS	95
	CAPÍTULO 4 VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE ARAÇAZEIRO E GOIABEIRA SUSCETÍVEIS E RESISTENTES A <i>Meloidogyne enterolobii</i>	98

1	INTRODUÇÃO.....	101
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	103
2.1	Material vegetal.....	103
2.2	Extração e amplificação de DNA.....	104
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	107
4	CONCLUSÃO.....	115
	REFERÊNCIAS.....	116

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

A goiabeira (*Psidium guajava*) é uma espécie da família *Myrtaceae*, que engloba mais de 100 gêneros e 3.500 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais, principalmente nas Américas e na Austrália. O gênero *Psidium* compreende cerca de 150 espécies, dentre as quais se destacam *P. guajava* L., *P. cattleyanum* Sabine e *P. guineense* Swartz ou *P. araça* Raddali (PEREIRA; NACHTIGAL, 2003).

O Brasil possui grandes áreas com condições edafoclimáticas favoráveis à produção comercial de goiaba (*P. guajava* L.). Esse aspecto tem relevância, não apenas pelo valor nutritivo da fruta, mas também pela perspectiva que representa no incremento da produção agrícola, na ampliação da atividade industrial e no potencial de exportação (ROZANE; COUTO, 2003). Porém, desde 1989, vêm sendo relatados severos danos à cultura, causados por *Meloidogyne enterolobii* (MOURA; MOURA, 1989).

Esse nematóide de galha é altamente agressivo e representa séria ameaça à cultura da goiabeira e a outras culturas do agronegócio nacional (SOUZA et al., 2006). Conforme estimativa de Pereira et al. (2009), no perímetro irrigado de Pernambuco e Bahia, os prejuízos diretos somaram R\$ 112,7 milhões. Esses dados evidenciam o forte impacto econômico e social causado pelo nematóide na produção dessa frutífera, com o agravante de não haver ainda o controle efetivo da doença.

Espécies pertencentes à família *Myrtaceae* com resistência a *M. enterolobii*, possibilitariam seu uso como porta-enxerto para as variedades comerciais de goiabeira. A existência de grande número de materiais geneticamente diferentes, mas que mantêm alguma afinidade morfofisiológica aumenta a chance de haver compatibilidade na enxertia entre diferentes espécies em *Psidium* (HARTMAN et al., 1997). Portanto, é imprescindível a busca por

materiais resistentes dentro de Myrtaceae e o estudo da viabilidade do uso desses materiais como porta-enxertos.

Carneiro et al. (2007) e Almeida et al. (2009) encontraram fontes de resistência ao nematóide em acessos de *Psidium cattleianum*. Contudo, o uso desses materiais diretamente como porta enxerto vem se mostrando impraticável, devido à incompatibilidade entre enxerto demandando trabalhos de melhoramento com essas espécies.

Estudos em programa de melhoramento genético têm sido extensivamente utilizados como potentes ferramentas, a disponibilidade de informações qualitativas e quantitativas sobre o germoplasma em estudo é fator decisivo para o sucesso da seleção genotípica (PEREIRA, 1984).

As informações relativas às características citogenéticas e conteúdo de DNA podem contribuir para o entendimento das relações de incompatibilidade entre porta-enxertos de *Psidium* sp. (araçazeiro) e *P. guajava* (goiabeira), resistentes ao nematóide *M. enterolobii* com genótipos comerciais de goiabeiras. Para Myrtaceae poucas espécies têm seu valor 2C estimado. Os primeiros registros para o grupo foram feitos para *P. guajava* com relatos de diferentes valores de 2C em indivíduos $2n = 22$, com 0,7pg (BENNET; SMITH, 1991) 1,3pg (BENNET; LEITH, 1997) e 0,5 pg (COSTA et al., 2008).

Em virtude da ampla distribuição geográfica das espécies da família, com ocorrência em ecossistemas diversificados, torna-se interessante o estudo da diversidade genética entre essas espécies.

Tecnologias de marcadores moleculares de DNA estão sendo cada vez mais utilizadas em programas de melhoramento, com o objetivo de aumentar a eficiência de seleção e caracterização de germoplasmas e a maximização dos ganhos genéticos, permitindo aos melhoristas o acesso e a seleção da variabilidade de DNA (WÜNCH; HORMAZA, 2007).

Alguns estudos de melhoramento genético em *Psidium* sp, têm sido realizados utilizando-se marcadores moleculares (HERNÁNDEZ-DELGADO et al., 2003; REVELES et al., 2003; VALDÉS-INFANTE et al., 2003; RUEDA et al., 2003; SANABRIA et al., 2006).

Um dos marcadores moleculares mais utilizados é o RAPD (amplificação arbitrária polimórfica de DNA) por ser uma técnica rápida e de custo relativamente baixo, porém com potencial informativo (AREIAS et al., 2006).

Padilla-Ramírez et al. (2002) utilizaram dados morfológicos e moleculares (RAPD), observando que, na região de Calvillo-Cañones no México, encontrando separação entre grupos de goiaba e de araçá e uma similaridade genética da ordem de 88%.

Portanto, com base no exposto, objetivou-se estudar a reação (resistência/suscetibilidade) de genótipos de araçazeiro e goiabeira ao nematóide *M. enterolobii* para servirem de porta-enxerto na cultura da goiabeira. Ainda dentro dessa etapa, procurou-se, de modo adicional, avaliar os teores de macro e micronutrientes, determinar o número de cromossomo e o conteúdo de DNA de acessos de araçazeiro e goiabeira (resistente/suscetível) frente a *M. enterolobii* que mantém alguma afinidade morfofisiológica e que possibilitassem sua utilização como porta-enxertos compatíveis para as variedades comerciais de goiabeira e bem como caracterizá-los por meio de marcadores moleculares.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Considerações gerais da cultura

2.2 Importância econômica do Araçazeiro

O crescente interesse no consumo de frutas e hortaliças deve-se principalmente pelos benefícios trazidos ao organismo. Sendo assim, o Brasil, por apresentar grande biodiversidade, adquire extrema importância neste contexto. Muitos dos frutos do País ainda são desconhecidos ou pouco utilizados. Entre eles, estão os araçazeiro, da família das *Myrtáceae*, que encontra-se distribuído pelo País, e que produz frutos de tamanho pequeno com coloração amarelada ou avermelhada, com sabor e aroma agradáveis (VAN VUUREN, 2008).

Em razão do cultivo do araçazeiro se constituir numa atividade agrícola pouco expressiva, assim como o beneficiamento da sua polpa pela indústria, os dados e informações relativas aos custos de produção são, de uma maneira geral, incipientes.

No Brasil, apenas duas cultivares de *P. cattleaynum* são conhecidas: a ‘Yacy’, que produz frutos de película amarela, com massa de 15 a 20 g, de sabor doce, baixa acidez e produção total de 4 kg de frutos/planta/ano em até três colheitas (dezembro a fevereiro/março a abril/maio); e a ‘Irapuã’, que possui frutos de película roxo-avermelhada e sabor mais ácido e leve adstringência, sendo mais adequada à confecção de doce em pasta. Apresenta produção 14 kg de frutos/planta/ano na idade adulta e frutos com tamanho de médio a grande (RASEIRA; RASEIRA, 2000a, b; RASEIRA et al., 2001).

O IPA (Instituto Agrônomo de Pernambuco), em sua coleção de germoplasma de araçá (*P. guineense*), vem adotando um sistema de produção

baseado em algumas das práticas utilizadas para a cultura da goiabeira (*P. guajava*). Entre os genótipos selecionados, cinco têm se destacado em 14 anos de observações: IPA-6.4; IPA-9.1, IPA-6.3, IPA-9.4 e IPA- 16.2, com produções médias que variaram de 15,1 a 16,6 kg de frutos/planta/ano (colheitas concentradas de janeiro a junho). Este resultado equivaleu a uma produção média por número de frutos de 1605 a 2045/planta/ano, cujos pesos médios variaram de 8,8 a 11,3 g (LEDERMAN et al., 1993; LEDERMAN et al., 1997).

Até o momento, não existem pomares comerciais ou domésticos dessa espécie. Os plantios existentes geralmente são espontâneos e as informações existentes na literatura são muito escassas e isoladas (PIRES et al., 2002).

Nas áreas de ocorrência natural e dispersão do araçazeiro, a geração de emprego e renda na agricultura familiar ainda é pouco representativa e, poucas são as comunidades rurais nestas áreas que obtêm na coleta do fruto, beneficiamento da polpa e comercialização dos seus produtos e derivados, uma fonte adicional de renda (FRANZOM, 2004).

Nos tabuleiros costeiros do Pernambuco, a subsistência desta atividade está, inclusive, ameaçada, haja vista o constante avanço, nestas áreas, dos cultivos da cana de açúcar e do coqueiro, além da ocupação desses solos com pastagens e com pecuária. Situação semelhante pode ser observada, também, com os araçazeiros nativos existentes nos cerrados da região Centro- Oeste; onde a exploração sistemática de uma agricultura empresarial intensiva tem colocado em risco a existência e manutenção dessa espécie (BRANDÃO et al., 2002).

Diante dessas ameaças e levando em consideração o grande potencial de exploração econômica que o araçá oferece, é fundamental o desenvolvimento de tecnologias de produção e de novos processos tecnológicos de aproveitamento industrial da polpa, bem como a adoção de estratégias de “marketing” que

possibilitem uma maior difusão; tornando-o mais conhecido do público consumidor. (BRANDÃO et al., 2002).

Sob as condições climáticas da Zona da Mata de Pernambuco, cuja precipitação pluviométrica atinge em média 2.000 mm anuais e estão concentradas entre os meses de maio a agosto, ocorrem, basicamente, duas safras do araçazeiro (*P. guineense*): a primeira, em fevereiro – março e outra em agosto – setembro (LEDERMAN et al., 1997). Já a maturação dos frutos do araçazeiro (*P. cattleaynum*), em condições naturais, no Sul do Brasil, dependendo da população, se inicia em fevereiro e pode estender-se até a chegada do inverno (FRANZOM, 2004).

Além dessas, outras possibilidades de uso para espécies de *Psidium* são conhecidas, como na recuperação de áreas degradadas e como alternativa para superar os problemas causados por nematóides em cultivos de goiabeira. Os araçás são consumidos ao natural e são utilizados para preparo de doces (a popular “araçazada”), compotas, sucos, polpas congeladas e geléias. A raiz é diurética e anti-diarréica, e a casca é usada em cortumes; as folhas e, sobretudo, os brotos são adstringentes, sendo empregados para controle de diarréia. A folha também fornece material tintorial. A madeira é própria para vigas, mourões, cercas, cabos de ferramentas e instrumentos agrícolas, móveis finos, lenha e carvão. A planta pode ainda ser utilizada para fins ornamentais em jardins, sítios e quintais (CORREA, 1978; DEMATTÊ, 1997; BRANDÃO et al., 2002).

Danos severos em cultivos comerciais de goiabeira (*P. guajava* L.) vêm sendo causados pelo nematóide *M. enterolobii* em alguns Estados do Brasil.

Nesse sentido, espécies de araçás nativos podem ser utilizadas como porta-enxertos, necessitando de maiores estudos visando encontrar espécies resistentes ao nematóide e compatível para a realização da enxertia, o que é de fundamental importância para viabilizar o seu uso como alternativa no controle do nematóide (SILVA, 2009).

2.3 Origem, historia e caracterização botânica do araçazeiro

O gênero *Psidium* é originário das Américas Tropical e Subtropical e é constituído de cerca de 100 espécies de árvores e arbustos, das quais a mais importante é a goiabeira (*P. guajava* L.) (LANDRUM; KAWASAKI, 1997). Os araçazeiros, também chamados de araçás, que apresentam ampla distribuição no território brasileiro, bem como em outras partes do mundo. O gênero *Psidium* tem representantes em todos os biomas brasileiros, e cerca de 43% das espécies são do Brasil.

As espécies de *Psidium* produtoras de frutos comestíveis, com variações regionais no que se refere ao nome popular, são conhecidas como araçás. O nome araçá vem do tupi ara'sa, ou do guarani ara (céu), e aza (olho), que significa fruta com olhos ou olhos do céu. (PIO CORREA, 1926)

De uma maneira geral, os araçazeiros estão distribuídos em quase todos os estados do Brasil, existindo relatos de espécies que ocorrem do Rio Grande do Sul até a Amazônia. Essas plantas vegetam mais diferentes ecossistemas, sendo que *P. guineense* ocorre nas restingas, tabuleiros, cerradões e capoeiras, enquanto *P. cattleyanum* ocorre na floresta latifoliada semi-decídua, matas ciliares, matas de altitude e também nas restingas do Sul do Brasil (BRANDÃO et al., 2002).

Com relação aos centros de diversidade de fruteiras do Brasil, Giacometti (1993), cita que no centro de diversidade Sul-Sudeste, o qual se estende desde o nordeste do Rio Grande do Sul, centro de Santa Catarina, Paraná e São Paulo até o Sul de Minas Gerais, em sua maior parte no Planalto Meridional Brasileiro, encontra se predominantemente as Myrtáceas e entre essas, o gênero *Psidium*.

Neste centro já foram indicadas por Mattos (1993) 18 espécies nativas, inclusive *P. cattleyanum* de fruto amarelo, *P. myrtoides*, de fruto vermelho, e *P.*

australis, de porte anão. Giacometti (1993) também cita o setor do centro Mata Atlântica, que vai do Cabo de São Tomé, no Rio de Janeiro, a Tramandaí, no Rio Grande do Sul, onde predomina a espécie *P. cattleyanum*, assim como o Centro Nordeste/Caatinga e o setor do Centro Mata Atlântica, que vai do Rio Real ao Sul de Vitória no Espírito Santo (Zona da Mata e áreas de transição), onde predomina a espécie *P. guineense*.

Nos Estados do Nordeste, é encontrada nas regiões do Litoral e Zona da Mata, principalmente nas áreas dos tabuleiros costeiros, caracterizados por possuírem solos pobres, ácidos e arenosos, mas também no Sul do Piauí e região da Chapada Diamantina. Ainda citam-se como duas regiões de ocorrência a Argentina e o México (CORRÊA, 1978; MATTOS, 1993; DEMATTÊ, 1997).

Ainda existe grande confusão quanto à nomenclatura científica das espécies de *Psidium* (CORRÊA, 1978; MATTOS, 1993), com algumas espécies necessitando de confirmação sobre a sua utilização, pois segundo Mattos (1993), foram estudadas apenas através de material botânico herborizado (ramos e flores).

Atualmente, no Brasil, as espécies com maior interesse para exploração comercial dos seus frutos são *P. guineense* Swartz e *P. cattleyanum* Sabine, sendo esta última originária do Sul do Brasil e distribuída do Rio Grande do Sul até a Bahia. Seus frutos são considerados dos melhores entre as espécies de araçás (MANICA et al., 2000).

Outras também são utilizadas para a produção de frutos no Brasil, como *P. acutangulum* DC., *P. australe* Cambess., *P. cinereum* Mart. ex DC. e *P. longipetiolatum* Legrand (DEMATTÊ, 1997; MANICA et al., 2000).

Psidium guineense Swartz é um arbusto ou árvore pequena de 6 m de altura, cujas inflorescências durante o crescimento inicial são cobertas com pêlos marrom-avermelhados, variando para cinza-amarelados, com cerca de 0,3 a 0,5 mm de comprimento.

Os brotos são aveludados, às vezes glabros; a casca mais antiga é geralmente polida e muitas vezes escamosa e resistente. As folhas são coriáceas de cor marrom-amarelada ou marrom-avermelhada de formato elíptico, elíptico-oblongo, com 4 a 11,5 cm de comprimento e 1 a 2 cm de largura, normalmente aveludadas na parte inferior; com ápice obtuso, arredondado ou agudo; e base também arredondada ou aguda; os pecíolos medem de 4 a 12 cm de espessura, canelados, geralmente pubescentes e raramente glabros. A nervura principal é plana na parte superior e proeminente na parte inferior. As nervuras laterais são em número de 1 a 10 (LANDRUM; KAWASAKI, 1997).

Os botões fechados medem 10 a 13 mm de comprimento com pedúnculos medindo entre 5 e 25 mm, podendo chegar até 30 mm de comprimento e 1 a 2 mm de espessura. O cálice no estado inicial é fechado completamente e repartido longitudinalmente em cinco pequenas partes. As pétalas têm um comprimento em torno de 7 a 11 mm; os estames são em número de 160 a 300 medindo entre 7 e 10 mm de comprimento. As anteras medem 1 a 3 mm de comprimento mais ou menos deiscentes, com algumas glândulas no conetivo; estiletos medindo 8 a 10 mm de comprimento e o ovário tri, tetra ou pentalocular com 50 a 100 óvulos por lóculo (LANDRUM; KAWASAKI, 1997).

O fruto subgloboso, podendo ser também elipsoidal com 1 a 3 cm de comprimento, geralmente com polpa amarela e sementes na quantidade de 22 a 100 podendo chegar até 250 sementes por fruto, as quais, medem 3 a 4 mm de comprimento (LANDRUM; KAWASAKI, 1997).

Em razão da maioria das espécies de araçazeiro encontrar-se em fase de domesticação, fato que leva ao desconhecimento das técnicas de propagação vegetativa, variedades definidas, práticas culturais, nutrição mineral e adubação, as informações existentes sobre o seu cultivo, com exceção daquelas para a

espécie *P. cattleaynum*, não estão disponíveis, necessitando-se mais estudos sobre o assunto.

A propagação do araçazeiro pode ser feita por sementes (mais usual) e por métodos vegetativos (estaquia e enxertia). Segundo Fachinello et al. (1994), para *P. cattleaynum*, a propagação por sementes é a preferida, pela facilidade de germinação (até 95%), por ser uma espécie em fase inicial de cultivo e pela ausência de acentuada segregação genética.

As sementes devem ser despulpadas a partir de frutos maduros colhidos das plantas e não daqueles caídos no solo. Em seguida são lavados e peneirados e as sementes extraídas são secas à sombra. Após a secagem, as sementes podem ser armazenadas a frio, em geladeira, por 30–40 dias, embaladas em sacos plásticos (DONADIO, 2002).

A germinação é obtida no intervalo de 10 a 15 dias, quando colocadas em substratos apropriados (DONADIO, 2002). A propagação vegetativa de *P. cattleaynum* por estaquia e enxertia, segundo alguns autores, não tem funcionado bem.

2.4 Importância econômica da goiabeira

A goiaba ocupa posição de destaque entre as frutas tropicais, já que apresenta elevados teores de vitaminas C e A e teores satisfatórios de vitaminas do complexo B. Os elevados teores de fibras úmida de ótima qualidade (3,0 a 6,0%), de proteínas, de açúcares totais e de elementos minerais, como cálcio, fósforo e potássio, fazem da goiaba uma das mais completas e equilibradas frutas no que diz respeito ao valor nutritivo (CARNEVALI, 1976; PEREIRA, 1995; MANICA et al., 1998).

Os maiores produtores mundiais dessa fruta são a Índia, o Paquistão, o Brasil, o Egito, a Venezuela, os Estados Unidos, a África do Sul, o México, a

Austrália e o Quênia. A exportação brasileira de goiabas e de seus derivados sempre ocorreu em pequenas quantidades, principalmente para França, Alemanha, Estados Unidos, Argentina, Paraguai e Bolívia (PEREIRA, 1995).

A goiabeira no Brasil é cultivada em escala comercial em quase todas as regiões, com destaque para os Estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro, na região Sudeste; Bahia, Pernambuco e Paraíba, na região Nordeste; Goiás, na região Centro-Oeste; e Rio Grande do Sul e Paraná, na região Sul (PEREIRA, 1995).

Entretanto, o país apresenta condições favoráveis para se tornar um dos maiores pólos produtivos de frutas para o mercado mundial. As diversidades de solo e de clima permitem o cultivo de um grande número de espécies frutíferas em diferentes regiões (GOMES, 2007).

O Brasil colheu, em 2007, de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2009), 316, 301 toneladas de goiaba, cujo valor da produção foi de 188.086 milhões de reais. A grande parte dos pomares da produção de goiaba está concentrada nas regiões Nordeste e Sudeste, com grande destaque para os estados de Pernambuco e São Paulo, com 65% da produção total (WATANABE, 2009).

A cultivar ‘Paluma’ foi obtida na UNESP- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (SP), a partir de sementes de plantas de polinização aberta de ‘Ruby Supreme’. Foi selecionada com a finalidade de se produzir frutos para a indústria, por possuir características desejáveis para a produção de goiabadas, geleias e compotas e também para consumo “in-natura”, devido a qualidade e a conservação dos seus frutos. Atualmente é a variedade mais utilizada em pomares comerciais no Brasil (COSTA; PACOVA, 2003).

A cultivar ‘Pedro Sato’, muito provavelmente, é originária de plantas propagadas por sementes da cultivar ‘Ogawa 1’. A planta é vigorosa, bastante produtiva, com crescimento lateral e/ou vertical, formando longos ramos

arqueados, apresentando frutos grandes, pesando de 300 a 400g, formato oblongo, casca rugosa, polpa firme, rosada e de sabor agradável (COSTA; PACOVA, 2003).

2.5 Origem, história e caracterização botânica da goiabeira

Segundo Gonzaga Neto & Soares (1994), a origem da goiabeira tem sido objeto de muita especulação; a dúvida reside, sobretudo, em saber se ela é de origem asiática ou americana. As primeiras referências a goiabeira datam do período compreendido entre 1514 e 1557, realizadas pelo cronista espanhol Oviedo em visita ao Haiti. Nessa ocasião, Oviedo denominou a goiabeira de *guayabo* (RUEHLE, 1964), nome comum dado nos países de língua espanhola da América Tropical (POPENOE, 1974).

Os franceses adotaram a forma *goyave*; os alemães, *guajava*; e os ingleses, *guava* (PEREIRA; MARTINEZ JUNIOR, 1986). Segundo esses mesmos autores, as informações existentes não permitem dúvidas sobre a origem americana da goiabeira. O local de origem, porém, permanece obscuro e parece ser na região compreendida do México ao Brasil, de onde muitas espécies do gênero *Psidium* foram originadas.

Alguns autores relatam que a goiabeira é nativa do Brasil, de onde foram levadas para todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo, em razão de sua fácil adaptação as diferentes condições edafoclimáticas, bem como da facilidade de propagação por meio de sementes (GONZAGA NETO; SOARES, 1994).

A introdução da goiabeira nas Índias Ocidentais, na Florida (EUA), África do Sul e em muitas ilhas do oceano Pacífico foi feita, principalmente, por navegadores espanhóis (PEREIRA, 1995).

As *Myrtaceae* têm sido organizadas tradicionalmente em duas subfamílias, *Leptospermoideae* e *Myrtoideae*, esta última incluindo todas as

mirtáceas americanas, exceto o gênero monotípico *Tepualia* (MARCHIORI; SOBRAL, 1997). A nova classificação infra-família proposta por Wilson et al. (2005), reconhece duas subfamílias, Myrtoideae e Psiloxylodeae, e 17 tribos. Todas as mirtáceas brasileiras estão incluídas na Tribo Myrteae (WILSON et al., 2005).

Myrtaceae é uma das famílias mais importantes do Brasil, destacando-se, com mais de uma centena de espécies, os gêneros *Eugenia*, *Myrcia* e *Calyptanthes*, enquanto o restante dos gêneros possui menos de 60 espécies brasileiras (LANDRUM; KAWASAKI, 1997). O gênero *Psidium*, com aproximadamente 150 espécies, destaca-se com as espécies *P. guajava* L. (goiaba), *P. cattleaynum* Sabine (araçá-doce, araçá-de-praia ou araçá-de-coroa) e *P. guineensis* Swartz ou *P. araça* Raddali (araçá-verdadeiro ou araçá azedo) (PEREIRA, 1995).

A goiabeira, planta perene, de porte arbustivo ou semi-arbóreo, com 3 a 7m de altura, está disseminada por todo o mundo. De acordo com Silva et al. (2000), é originária de alguma região da América Tropical, situada entre o México e o Brasil. É uma planta que se adapta muito bem em regiões do clima subtropical e se desenvolve em quase todo território brasileiro.

Não toleram geadas e ventos frios e não vegeta em locais que apresentam temperaturas abaixo de 12 °C. Por ser uma planta rústica, se adapta aos mais variados tipos de solo, porém não prosperam em terrenos encharcados, pantanosos, mal arejados ou impermeáveis. Deve ser cultivada sob sol pleno, em solos férteis, drenáveis ricos em matéria orgânica e irrigados periodicamente (MARTINS; HOJO, 2009).

A propagação de plantas é um dos itens de fundamental importância para o sucesso de uma determinada cultura. No caso da goiabeira, tem havido, nas últimas décadas, um grande avanço, uma vez que se passou de pomares oriundos de sementes, nos quais se encontrava grande variabilidade, aos dias de hoje,

onde a clonagem é uma constante, seja por meio de enxertia, seja por estaquia (MARTINS; HOJO, 2009).

O sistema de propagação mais simples é pela utilização de sementes, coleta frutos maduros de plantas selecionadas, faz a retirada das sementes, lavagem, secagem e semeadura, a qual pode ser em canteiro ou diretamente em sacos plásticos. Cerca de 30 dias após tem-se o início de germinação, mas estas, além de resultarem em variabilidade, têm o inconveniente da juvenilidade, condição que normalmente, faz com que as plantas levem maior tempo para entrarem produção, situação não interessante ao produtor, pois isto reflete num aumento de tempo para o retorno financeiro (MARTINS; HOJO, 2009).

Em face do exposto, as sementes devem ser usadas apenas como material propagativo, quando se tiver por objetivo a obtenção de porta-enxertos e as plântulas estarão em condições de ser enxertadas quando o diâmetro, a 20 cm do colo estiver por volta de 0,8 cm. Os tipos de enxertia a serem utilizados dependerão, principalmente, da disponibilidade de material, isto é, com pouco material, usa-se borbulhia, com quantidade maior, a garfagem (MARTINS; HOJO, 2009).

Esses nematóides são devastadores e podem causar 100% de danos. Torres et al. (2004) afirmam que, cerca de 70 % das goiabeiras da região do Vale do São Francisco já morreram devido ao ataque do nematóide denominado *M. enterolobii*.

2.6 Nematóide

Os nematóides do gênero *Meloidogyne*, estão amplamente distribuídos e atacam quase todas as plantas cultivadas, causando perdas consideráveis na produção e afetando também a qualidade dos produtos (SASSER; KEIRBY,

1979). Os nematóides das galhas são parasitas obrigatórios de vegetais, e possuem como característica o dimorfismo sexual.

As diferenças gerais na forma do corpo entre machos e fêmeas, tais como fêmeas arredondadas e machos vermiformes, são estabelecidas durante o desenvolvimento pos-embriônico do nematóide (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991).

O desenvolvimento embrionário resulta no juvenil de primeiro estágio. Este sofre uma ecdise ainda no ovo, dando origem ao juvenil de segundo estágio (J2). O J2 é móvel, vermiforme, infectivo e migra no solo atraído por substâncias que emanam das plantas, penetrando nas raízes da planta hospedeira. O J2 move-se através dos tecidos da planta e estabelece o seu sítio de alimentação no parênquima vascular, resultando em um complexo relacionamento com a planta (TAYLOR; SASSER, 1983).

O J2 torna-se sedentário e induz a formação de células especiais chamadas células nutritivas (células gigantes). Após três ecdises, finalmente surgem os adultos, que podem ser fêmeas ou machos. As fêmeas produzem ovos por três meses. Depois cessam a produção, podendo viver um pouco mais. Os machos vivem semanas e os J2 podem viver de poucos dias a meses (TAYLOR ; SASSER, 1983).

Logo após a última ecdise, a fêmea jovem começa a se alimentar, permanecendo nesse sítio o restante de sua vida (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991).

Durante esse desenvolvimento pos-embriônico, o sistema reprodutivo desenvolve-se e crescem as gônadas funcionais. A mudança de forma nos machos (piriforme para adulto vermiforme) ocorre durante o quarto estágio juvenil (J4). Nesse período, o J4 sofre uma metamorfose na qual o corpo se alonga, assumindo o macho a forma vermiforme (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991). O macho de quarto estágio está envolvido pelas

cutículas do segundo e terceiro estádios, e após a última ecdise, o macho emerge inteiramente desenvolvido (TAYLOR; SASSER, 1983).

Os machos não se alimentam, saem da raiz e movem-se livremente no solo (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991). A duração do ciclo de vida do nematóide das galhas é fortemente afetada pela temperatura. Dentre os fatores limitantes para seu desenvolvimento, pode-se destacar a temperatura onde os limites letais absolutos são 50°C (superior) e 0°C (inferior), e o ótimo de longevidade 10°C, sendo as temperaturas ideais para o desenvolvimento e reprodução entre 25-30 °C (EISENBACK; TRIANTAPHYLLOU, 1991).

M. enterolobii pertence à família *Heterodeidae* e gênero *Meloidogyne* Goeldi. Sua descrição foi feita na cultura da berinjela (*Solanum melongena* L.) em Porto Rico (RAMMAH; HIRSCHMANN, 1988).

O formato da configuração perineal das fêmeas varia de circular a ovulado, o arco dorsal de arredondado a trapezoidal e pode ser baixo ou alto. As estrias são largamente espaçadas, e a região da extremidade da cauda é grande, circular e usualmente sem estrias. As linhas laterais, muitas vezes, estão ausentes. Essa grande variabilidade nos padrões perineais de *M. enterolobii* foi ilustrada por Block et al. (1997).

Os bulbos do estilete das fêmeas são caracteristicamente reniformes e não estão visivelmente divididos. A região cefálica dos machos é alta, retangular e não é projetada para fora do corpo. Outro caractere importante dos machos são os bulbos do estilete. Estes são separados e não são divididos longitudinalmente por uma rachadura.

Nos J2, a cauda afila-se, gradualmente, até a ponta. Aparentemente, essa espécie tem sido identificada incorretamente por alguns autores como *M. incognita* ou *M. arenaria*, devido à semelhança de caracteres morfológicos de padrões perineais. As reações de hospedeiros diferenciadores a *M. enterolobii*

também confere com as reações a *M. incognita* raça 2 (RAMMAH; HIRSCHMANN, 1988)

Estudos utilizando técnicas moleculares, como RFLP e RAPD, constataram que populações de populações de *M. enterolobii* originárias da África ou das Américas são muito próximas e constituem um grupo único, muito distinto de *M. incognita*, *M. arenaria* e *M. javanica* (BLOCK et al., 1997).

As alterações no agroecossistema, provocadas pela expansão do cultivo da goiabeira, propiciam condições favoráveis ao surgimento de problemas fitossanitários na cultura. Destacando-se aqueles relacionados as pragas (BARBOSA, 2001) e mais recentemente aos fitonematóides, especificamente as espécies de *Meloidogyne*.

Os nematóides estão entre os animais multicelulares mais numerosos que existem no planeta. São estimados em um milhão de espécies (VIGLIERCHIO, 1991). Muitas espécies de nematóides são importantes na agricultura, algumas pelos danos causados a produção, e outras, de vida livre, pelo efeito benéfico à mesma. Os nematóides fitoparasitas promovem distúrbios do sistema radicular, induzindo a formação de interações morfofisiológicas, prejudicando a absorção e translocações de água e nutrientes.

As perdas devidas ao ataque de nematóides na agricultura mundial são estimadas em aproximadamente US\$ 80 bilhões/ano. A quantificação de perdas no Brasil não é precisa devido principalmente às interações com danos provocados por pragas e outras doenças, condições climáticas adversas, presença de plantas invasoras e inadequação de tratamentos culturais (RITZINGER; FANCELLI, 2006).

Doenças causadas por nematóides na goiabeira não eram conhecidas pelos produtores até recentemente. O primeiro registro ocorreu na Ásia em 1985. Atualmente, sabe-se que tais parasitas são fatores limitantes da produção e da qualidade de frutos de goiaba em várias partes do mundo (BARBOSA, 2001).

Dentre os nematóides causadores de danos na agricultura brasileira, os mais importantes pertencem ao gênero *Meloidogyne* Goeldi, e são também conhecidos como nematóides de galhas. Para a goiabeira, a espécie que causa maiores perdas é *M. enterolobii*, (RAMMAH; HIRSCHMANN, 1988). No Brasil, *M. enterolobii* foi assinalada pela primeira vez em 1989, nos municípios de Petrolina-PE, Curaca e em 2001 Manicoba-BA, causando danos severos em plantios comerciais de goiabeira (CARNEIRO et al., 2001). Posteriormente foi devastado para outras regiões do País.

Prejuízos relacionados a esta meloidoginose são variáveis, mas em alguns casos são responsáveis por até 100% na produção. Plantas de goiabeira parasitadas apresentam redução no número e tamanho dos frutos (BARBOSA, 2001). Ainda segundo este autor também ocorre a redução da vida útil do pomar para 5 ou 7 anos, que em condições normais é cerca de 20 anos.

Na Malásia, a erradicação está ocorrendo em pomares de sete anos. No Vale do São Francisco, Nordeste brasileiro, os danos são variados, ocorrendo desde o impedimento do desenvolvimento de algumas mudas no pomar até a morte de plantas adultas. Em casos mais graves, pomares adultos têm sido erradicados aos quatro anos (GOMES et al., 2008).

Em diversas cultivares de goiabeira, o parasitismo por *M. enterolobii* causa declínio generalizado da planta, o sintoma primário da doença são galhas de grandes dimensões com necroses associadas no sistema radicular. Conseqüentemente, ocorre a diminuição drástica das raízes finas. O nematóide infecta todos os tipos de raízes, desde as radículas superficiais até a raiz pivotante mais lignificada, localizada a mais de 50 cm de profundidade.

Os sintomas secundários no campo são forte bronzeamento de bordos de folhas e ramos, seguido de amarelecimento total da parte aérea, culminando com o amarelecimento generalizado e morte súbita da planta (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001; MOREIRA; HENRIQUES, 2001).

Há de se notar que goiabeiras parasitadas por *M. enterolobii* convivem com o nematóide por muitos meses, porém com uma produtividade em torno de 70% menor do que aquela obtida em plantas sadias (SOUZA et al., 2007). Prejuízos relacionados a meloidoginose na goiabeira são variáveis, havendo constatação de perdas de até 100 % da produção.

Na região de Petrolina (PE), em função do ataque destes nematóides, já ocorreu redução de área plantada de 6.000 ha para 2.500 ha, com quebra de mais de 50% da produção de goiaba (CARNEIRO et al., 2006a).

Para evitar danos causados por *M. enterolobii* em goiabeira deve se preferencialmente escolher o plantio em áreas índenes, utilizando mudas comprovadamente sadias. O controle pos-plantio de *M. enterolobii* em goiabeira é muito difícil, caro e trabalhoso (GOMES et al., 2008).

Entretanto dois métodos de controle se destacam pelos aspectos de segurança, efetividade e baixo custo: a utilização de cultivares resistentes de goiabeira como pé franco ou porta-enxerto e a rotação com culturas resistentes.

Carneiro et al. (2007) encontraram resistência moderada em araçás da espécie *P. friedrichsthalianum* e resistência em três acessos de *P. cattleaynum*. Embora esses acessos tenham se mostrado compatíveis na enxertia (50%), poucas plantas sobreviveram em condições de campo

Burla et al. (2007) avaliaram a reação a *M. enterolobii* de vinte e seis acessos de goiabeira e um de araçazeiro e encontraram que todos os materiais avaliados foram suscetíveis segundo a escala de Taylor; Sasser (1983). Segundo esta escala a classificação dos materiais é baseada na observação do número de galhas e massa de ovos presentes no sistema radicular.

Os sintomas causados por nematóides em plantas, na maioria dos casos, não lhe são específicos, podendo muitos deles ser confundidos com distúrbios no solo, tais como falta de nutrientes, pH, compactação, patógeno do solo, dentre outros. Os principais sintomas causados por nematóides são: sistema

radicular muito pobre ou muito denso, necrose em órgãos subterrâneos, raízes com galhas, descolamento do córtex radicular, tamanho desigual das plantas, frutos menores, menor produção, sintomas de deficiência mineral (SILVA, 2009).

No caso do parasitismo por nematóide do gênero *Meloidogyne*, o sintoma mais conspícuo é a presença de galhas nas raízes, conseqüência da hiperplasia e hipertrofia de células e tecidos, como resultado da ação de substância secretada pelas glândulas esofageanas dos nematóides (HUSSEY, 1985). Em goiabeira, *M. enterolobii* causa galhas de grandes dimensões, associadas a necroses no sistema radicular, atingindo todas as raízes, inclusive as raízes pivotantes, a mais de 50 cm de profundidade. Os sintomas reflexos, vícios nas partes aéreas, caracterizam-se por forte brozeamento dos bordos das folhas, amarelecimento generalizado da parte aérea, desfolha total da planta, seca de ramos e morte de plantas (SILVA, 2009).

Em goiabeira, os sintomas causados por *M. enterolobii* estão associados à deficiência de nitrogênio, fósforo e potássio. Além disso, as plantas apresentam uma tendência à menores absorção de cálcio, magnésio e acúmulo de manganês (GOMES et al., 2008).

A adubação periódica, mediante análise previa do solo, é uma prática cultural muito importante e que pode contribuir para reduzir os efeitos dos nematóides sobre a planta, aumentando a longevidade do pomar (SILVA, 2009).

2.7 Marcadores moleculares

A goiabeira, assim como o araçazeiro, fruteiras do gênero *Psidium*, são plantas que se adaptam bem a diferentes climas e tipos de solo, fator que favoreceu a introdução da cultura no Vale do Submédio São Francisco (TORRES et al., 2004).

Estudos de melhoramento genético têm sido extensivamente utilizados como potentes ferramentas, tanto no que diz respeito à obtenção de cultivares com vantagens econômicas, como alta produtividade e melhor aspecto dos frutos, quanto na caracterização e conservação de material genético (PEREIRA, 1984).

A variação genética tem sido estudada através de caracteres fenotípicos, que são frequentemente influenciados por condições ambientais (PERSSON, 2001). Tais estudos, no entanto, passaram a ser complementados, nas últimas décadas, por técnicas moleculares (DREW, 1997; SUNIL, 1999), como marcadores moleculares, cujo conhecimento pode auxiliar, tanto em estudos de mapeamento genético de populações quanto na identificação de híbridos de interesse nas gerações de indivíduos e na seleção de potenciais porta-enxertos, possibilitando ainda a definição de estratégias para conservação de recursos genéticos (SANTOS et al., 2007a).

A utilização de marcadores moleculares é uma ferramenta chave que possibilita aos programas de melhoramento determinar mapeamento e diagnósticos genéticos, taxonomia molecular, análises de integridade genética e estudos evolutivos de macro e microrganismos. Alternativamente, o uso de marcadores genéticos baseados na identificação de polimorfismo de DNA, é utilizado pelo melhorista para criar um padrão genético próprio de cada cultivar (WÜNCH; HORMAZA, 2007).

Uma das principais vantagens da utilização destes é propiciar a redução do tempo para identificação da diversidade genética entre os indivíduos trabalhados (XAVIER et al., 2005). Um dos marcadores moleculares mais utilizados é o RAPD (amplificação arbitrária polimórfica de DNA) por ser uma técnica rápida e de custo relativamente baixo, porém com potencial informativo (AREIAS et al., 2006).

Os marcadores de RAPD são bastante estudados, e permitem gerar uma grande quantidade de informações sobre a diversidade genética. Em geral, os dados são obtidos na forma de matriz composta por certo número de genótipos que podem ser variedades, isolados ou clones, genotipados para dezenas ou centenas de marcadores RAPD, obtidos com um ou mais *primers*. São ferramentas importantes para verificar a variabilidade existente entre diferentes isolados de uma mesma espécie e permitem verificar o grau de relação genética entre estes isolados (AUFVRE-BROWN et al., 1992).

Muitos estudos de melhoramento genético em *Psidium*, sp têm sido realizados utilizando-se marcadores moleculares (HERNÁNDEZ-DELGADO et al., 2003; REVELES et al., 2003; VALDÉS-INFANTE et al., 2003; RUEDA et al., 2003; SANABRIA et al., 2006). O marcador AFLP foi utilizado por Valdés-Infante et al. (2003) para caracterizar 62 acessos de goiabeiras em Cuba e por Hernández-Delgado et al. (2007), que analisaram acessos de *Psidium*, encontrando separação entre grupos de goiaba e de araçá no México.

Visando à caracterização de germoplasma de goiabeiras do Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuárias (INIFAP) no México, Padilla-Ramírez et al. (2002) utilizaram dados morfológicos e moleculares (RAPD), observando que, na região de Calvillo-Cañones, há reduzida variabilidade genética, pois nos materiais avaliados encontrou-se uma similaridade genética da ordem de 88%.

2.8 Tamanho do genoma e número cromossômico

A compatibilidade na enxertia é entendida como aquela em que ocorre a união bem-sucedida entre o enxerto e o porta-enxerto, resultando no desenvolvimento satisfatório da planta. Quando isso não ocorre, tem-se o que é chamado de incompatibilidade (FACHINELLO et al., 2005). Segundo esses

mesmos autores, embora o mecanismo de incompatibilidade esteja relacionado a fatores genéticos de diferentes enxertos e porta-enxertos, em alguns casos particulares, isso não fica claramente evidenciado, em virtude do grande número de materiais vegetativos geneticamente diferentes, que podem ser unidos pela enxertia.

As análises citogenéticas podem trazer contribuições indispensáveis no sentido de aumentar a eficiência das estratégias de conservação e mesmo de trabalhos de melhoramento com a espécie. Diferenças no número cromossômico entre as espécies usadas podem explicar a incompatibilidade.

Cada cromossomo ou par de cromossomos representa um papel decisivo no desenvolvimento de um indivíduo. Por isso, o número de cromossomos e as variantes que cada um deles apresenta, dentro de uma espécie, são dados importantes para a determinação da posição filogenética e taxonômica (GUERRA, 1988), tanto dentro de táxons inferiores quanto em níveis superiores (GUERRA, 1990).

A caracterização precisa do cariótipo tem fundamental importância quando o objetivo é comparar cariologicamente espécies diferentes ou analisar a variação entre indivíduos da mesma espécie. Um dos parâmetros mais utilizados para a caracterização citológica de uma espécie é o número cromossômico (PEDROSA et al., 1999). Para Sybenga (1998), a citogenética fornece informações indispensáveis para a manipulação das plantas. Neste contexto, o número cromossômico é um dos parâmetros mais utilizados para a caracterização citológica de uma espécie que, aliado a outros caracteres citológicos, fornece informações para o entendimento das alterações genéticas envolvidas.

Em termos de frutíferas comerciais, nativas ou não, a citologia tem sido pouco empregada, o que representa uma lacuna importante para o melhoramento (PEDROSA et al., 1999).

De acordo com Atchinson (1947) o número básico para a família Myrtaceae é $X = 11$, ocorrendo pequena variação no número cromossômico, sendo registrado na maioria dos gêneros, circunscritos em diferentes subfamílias e tribos (RYE, 1979). Costa (2004) e Costa; Forni-Martins (2006a, b, 2007) corroboraram a uniformidade de números cromossômicos apontada anteriormente.

Espécies diplóides ocorrem com maior frequência nas Myrtoideae de frutos secos (tribos Chamelaucieae, Leptospermeae e Melaleuceae) (RYE, 1979), enquanto a poliploidia é muito comum em táxons de frutos carnosos (tribo Myrteae).

Costa (2004) e Costa; Forni-Martins (2006a, b) ressaltaram a importância da poliploidia como um importante processo evolutivo em Myrteae, registrando origem por poliploidia ($2n = 33$ e 44) em 21% das espécies de *Eugenia* e 75% das espécies de *Psidium* por eles analisadas. Também verificaram a ocorrência frequente de citótipos diferenciados pelo nível de ploidia em diversas espécies, variando de 22, 33 e 44 cromossomos, porém não realizaram estudos mais aprofundados para determinar a natureza destes poliplóides.

A poliploidia é considerada um dos mecanismos adaptativos e evolutivos importantes em plantas, favorecendo uma amplitude ecológica e distribuição geográfica mais ampla que os parentais diplóides (BRIGGS; WALTERS 1997). A dificuldade na taxonomia das mirtáceas neotropicais (BARROSO 1991; MCVAUGH 1956) pode ser decorrente da especiação envolvendo hibridação e poliploidia, com surgimento de caracteres morfológicos intermediários entre as espécies proximalmente relacionadas, sendo o fluxo gênico entre elas interrompido pela diferenciação cromossômica, principalmente por poliploidia. A hibridização e a poliploidia são reconhecidas como os principais fatores que promovem a diversidade genética e a especiação em

plantas, sendo a poliploidia o mecanismo evolutivo responsável pela restauração da fertilidade dos híbridos (STEBBINS, 1950).

A diferenciação de raças cromossômicas ou citótipos pode ser entendida como uma etapa intermediária e importante, pois leva ao isolamento genético, fornecendo uma barreira ao fluxo gênico (STACE, 1991) atuando na diferenciação e favorecendo o processo de especiação (BRIGGS; WALTERS 1997).

Outra importante alteração estrutural responsável por parte da variação cromossômica numérica nas angiospermas é a disploidia. Segundo Guerra (1988, 2008), a disploidia é a alteração no número cromossômico sem variação no conteúdo de DNA, e geralmente ocorre devido a quebras nos cromossomos, originando cromossomos telocêntricos (fissão cêntrica) ou o inverso (fusão cêntrica).

A citometria de fluxo tornou-se uma ferramenta poderosa para o estudo de genomas vegetais permitindo discutir aspectos evolutivos em diversos grupos (DOLEZEL et al., 2007). Foi originalmente desenvolvida, no fim dos anos 50, para a contagem e análise de células sanguíneas.

No domínio das células vegetais, apesar da utilização da citometria de fluxo ter ocorrido apenas no início dos anos 80, o número de aplicações tem aumentado continuamente desde então, sendo, hoje em dia, uma técnica rotineiramente utilizada em estudos de melhoramento vegetal, taxonomia e em vários laboratórios por todo o mundo (DOLEŽEL, 1991).

A estimativa do conteúdo em DNA nuclear foi à primeira (HELLER, 1973) e continua a ser a principal utilização da citometria de fluxo em plantas. Presentemente, a citometria de fluxo é considerada a metodologia mais apropriada para este tipo de ensaios.

Costa et al. (2008) estimou o tamanho do DNA em espécies de *P. cattleyanum*, *P. guajava* (frutos vermelhos) e *P. guajava* (frutos amarelos)

verificou-se que o genoma da espécie *P. cattleyanum* era maior que os de espécies *P. guajava*.

Nesse contexto, as informações relativas às características citogenéticas e conteúdo de DNA podem contribuir para o entendimento das relações de incompatibilidade entre porta-enxertos de *Psidium* sp. (araçazeiro) e *P. guajava* (goiabeira), resistentes ao nematóide *M. enterolobii* com genótipos comerciais de goiabeiras.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, E.J.; MARTINS, A.B.G.; SANTOS, J.M. Resistência de goiabeiras e araçazeiros a *Meloidogyne mayaguensis* e estudo da compatibilidade na enxertia. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.44, n.4, p. 421-423, 2009.

AREIAS, R. G. B. M.; PAIVA, D. M.; SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. Similaridade genética de variedades crioulas de arroz, em função da morfologia, marcadores RAPD e acúmulo de proteínas nos grãos. **Bragantia**, v. 65, n. 1, p. 19-28, 2006.

ATCHINSON E. Chromosome numbers in the Myrtaceae. **American Journal of Botany** v.34,n.5, p. 159-164, 1947.

AUFAUVRE-BROWN, A.; COHEN, J.; HOLDEN, D. W. Use randomly amplified Polymorphic DNA markers to distinguish isolates of *Aspergillus fumigatus*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, p. 2991-2993, 1992.

BARROSO, G.M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Viçosa: (UFV) 1991, v.2, p.157-169.

BENNETT, M.D.; SMITH, J.B. Nuclear DNA amounts in angiosperms. **Philos Trans R Soc Lond Biol Sci** v.274, p. 227-274, 1991.

BENNETT, M.D.; LEITCH, I.J. Nuclear DNA amounts in Angiosperms – 583 new estimates. **Annals of Botany** 1997, p.169-196.

BLOCK, V.; PHILLIPS, M.S.; NICOL, M.C.; FARGETTE, M. Genetic variation in tropical *Meloidogyne* spp. as show by RAPDs. **Fundamental Applied Nematology**, v.20,n.2, p.127-133, 1997.

BRANDÃO, M.; LACA-BUENDÍA, J. P.; MACEDO, J. F. **Árvores nativas e exóticas do Estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2002. 528 p.
BRIGGS, D.; WALTERS, S.M. **'Plant variation and evolution.'** (University Press: Cambridge), 1997, 256p.

BURLA, R.S.; SOUZA, R.M.; GONCALVES, J.R. E.; MOREIRA, F.O.M.
Reação de acessos de *Psidium* spp. a *Meloidogyne mayaguensis*. XXVII CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, Goiania, **Anais de Nematologia Brasileira** 2007, p.127.

CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A.; BRAGA, A.R.S.; ALMEIDA, C.A.; GIORIA, R. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* parasitando plantas de tomate e pimentão resistentes a meloidoginose no Estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira** v.30, n.1, p. 81-86, 2006 a.

CARNEIRO, R.M.D.G.; MOREIRA, W.A.; ALMEIDA, M.R.A.; GOMES, A.C.M.M. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n.22, p. 223-228, 2001.

CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécies. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n.1, p. 35-44, 2001.

CARNEIRO, R.M.D.G.; CIROTTI, P.A.; QUINTANILHA, A.P.; SILVA, D.B.; CARNEIRO, R.G. Resistance to *Meloidogyne mayaguensis* in *Psidium* spp. accessions and their grafting compatibility with *P. guajava* cv. Paluma. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n.4, p. 281-284, 2007.

CARNEVALI, A. La guava. **Fruticultura**, v.38, n. 12, p. 29-33, 1976.

CORRÊA, M.P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura/IBDF, 1978. V.1, p. 139-144.

COSTA, I.R.; FORNI-MARTINS, E.R. Chromosome studies in Brazilian species of *Campomanesia* Ruiz & Pávon and *Psidium* L. (Myrtaceae Juss.). **Caryologia** v59, p. 7-13, 2006a.

COSTA, I.R.; FORNI-MARTINS, E.R. Chromosome studies in species of *Gomidesia*, *Marlierea*, *Myrceugenia* and *Myrcia* (Myrtaceae, subtribe Myrciinae). **Kew Bulletin** v.62, p.113-118, 2007b.

COSTA, I.R. **Estudos cromossômicos em espécies de Myrtaceae Juss. no sudeste do Brasil** 2004. 80p. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP.

COSTA, A.F.S.; PACOVA, B. E. Botanica e variedades. In: COSTA, A. F. S. & A. N. COSTA. **Tecnologias para a produção de goiaba**. INCAPER, Espírito Santo, 341p. 2003.

COSTA, I.R.; DORNELAS M.C.; FORNI-MARTINS, E.R. Evolution of nuclear DNA amounts in Neotropical Myrtaceae (fleshy-fruited Myrteae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 276, p.209-217, 2008.

DEMATTE, M. E. R. P. Ornamental use of Brazilian Myrtaceae. **Acta Horticulturae**, The Hague, NL, n. 452, p. 143-179, 1997.

DONADIO, L. C. **Frutas brasileiras**. Jaboticabal: Novos Talentos, 2002. 288 p.

DREW, R.A. The application of biotechnology to the conservation and improvement of tropical and subtropical fruit species. **Caryologia** v. 1, n.21, p.77, 1997.

DOLEZEL, J.; GREILHUBER, J.; SUDA, J.; **Flow Cytometry with Plants: an Overview**. In. Flow Cytometry with Plant Cells - Analysis of Genes, Chromosomes and Genomes. Dolezel, Greilhuber, Suda (eds.) 2007,123-154p.

DOLEŽEL, J. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in higher plants. **Phytochemical Analysis** v.2, p. 143-154. 1991.

EISENBACK, J.D.; TRIANTAPHYLLOU, H. Root-Knot nematode: *Meloidogyne* sp. and races. In: Nickle, W. R. (ed). **Manual of agricultural Nematology**. New York, v.3, p. 191-274, 1991.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: UFPel, 1994. 179 p.

FRANZOM, R. Frutíferas nativas do Sul do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 2.; ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 1., 2004, Pelotas, RS. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. v. 1, p. 252-265. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 124).

GIACOMETTI, D. C. Recursos genéticos de fruteiras do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1992, Cruz das Almas, BA. **Anais...** Cruz das Almas, BA: EMBRAPA-CNPMF, 1993. p. 11-27.

GOMES, V. M. **Meloidoginose da goiabeira: estudos sobre a sua patogênese e formas de convívio com a doença no campo**. 2007. 80p Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual do Norte Fluminense – Rio de Janeiro.

GOMES, V.M.; SOUZA, R.M.; SILVA, M.M.; DOLINSKI, C. Caracterização do estado nutricional de goiabeiras em declínio parasitadas por *Meloidogyne mayaguensis*. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n.2, p.154-160, 2008.

GONZAGA NETO, LG.; SOARES, J.M. **Goiaba para exportação: aspectos técnicos**. Brasília: EMBRAPA – SPI, 1994. 49 p.

GUERRA, M. Citogenética de angiospermas coletadas em Pernambuco I. **Revista Brasileira de Genética**. CCB/UFPE, Recife, v.9, n.1, p.21-40, 1998.

GUERRA, M. A situação da citotaxonomia de angiospermas nos trópicos e, em particular, no Brasil. **Acta Botânica Brasílica**. v.4, n.2, p.75-85.1990.

HARTMAN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR., F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 6. ed. New Jersey: Prentice Hall, 1997. 770 p.

HELLER, F. O. DNA-measurement of *Vicia faba* L. with pulse cytophotometry. **Berichte Der Deutschen Botanischen Gesellschaft** v.86, p. 437-441, 1973.

HERNÁNDEZ-DELGADO, S.; MARTINEZ, J.; PADILLA-RAMÍREZ, J.S.; PEREZ, N.M.; Diversidade genética de *Psidium* sp em la región Calvillo-Cañonnes. **México Primer Simposio Internacional de la guayaba** (México) p. 71-83, 2003.

HERNÁNDEZ-DELGADO, S.; PADILLA-RAMÍREZ, J.S.; CEDILLO, A.N.; PEREZ, N.M.; Morphological and genetic diversity of Mexican guava germplasm. **Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization** v.5, n.3, p. 131-141. 2007.

LANDRUM, L. R.; KAWASAKI, M. L. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, Bronx, US, v. 49, p. 508-536, 1997.

LEDERMAN, I. E.; BEZERRA, J. E. F.; PEDROSA, A. C.; DANTAS, A. P.; PEREIRA, R. C. de A. Avaliação de seedlings de araçazeiro-comum (*Psidium guineense* Swartz) em Pernambuco. I – Plantas juvenis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, BA, v. 15, n. 1, p. 15-19, 1993.

LEDERMAN, I. E.; SILVA, M. F. F.; ALVES, M. A.; BEZERRA, J. E. F. Selection of superior genotypes of Brazilian guava (*Psidium guineense*, Swartz) in the Coastal Wood Forest Region of Northeast Brazil. **Acta Horticulturae** n. 452, v.3, p. 95-100, 1997.

MARCHIORI, J.N.C.; SOBRAL, M. **Dendrologia das angiospermas** – Myrtales. Editora da UFSM, Santa Maria. 1997, 112p.

MANICA, I.; KIST, H.; MICHELETTO, E.L.; KRAUSE, C.A. Competição entre quatro cultivares e duas seleções de goiabeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, n 8, p. 1305 – 1313, 1998.

MANICA, I.; ICUMA, I.M.; JUNQUEIRA, N.T.V.; SALVADOR, J.O.; MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. **Fruticultura tropical: goiaba**. Porto Alegre, Cinco Continentes, 2000, 373p.

MARTINS, A.B.G.; HOJO, R.H. **A Cultura da goiabeira á comercialização** – Jaboticabal: FCAV, Capes, CNPQ, FAPESP, Fundunesp, SBF, 2009, 284p.;il, vol.2.

MATTOS, J. R. Fruteiras nativas do Sul do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1992, Cruz das Almas, BA. **Anais...** Cruz das Almas, BA: EMBRAPA-CNPMPF, p. 35-50, 1993.

MC VAUGH, R. **Tropical American Myrtaceae**. Notes on generic concepts and descriptions of previously unrecognized species. *Fieldiana: Botany* 1956, 145-228p.

MOREIRA, W. A.; HENRIQUES-NETO. Desenvolvimento populacional de *Meloidogyne* spp. em mudas de goiabeira estaqueadas e enxertadas tratadas com nematicidas. **Nematologia Brasileira**, v.25, n.11, p.25-126, 2001.

PADILLA-RAMÍREZ, J. S.; GONZÁLEZ-GAONA, E.; ESQUIVEL-ILLAGRANA, F.; MERCADO-SILVA, E.; HERNÁNDEZ-DELGADO, S.; MAYEK-PÉREZ, N. Caracterización de germoplasma sobresaliente de guayabo de la región Calvillo-Cañones, México. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 25, n. 4, p. 393-399, 2002.

PEDROSA, A., GATAÍ, J., BARROS E SILVA, A.E.; FELIX, L.; GUERRA, M. Citogenética d angiospermas coletadas em Pernambuco–V. **Acta Botânica Brasileira**. Porto Alegre, v.13, n.1, p.49-51, 1999.

PEREIRA, F.M. Rica e Paluma: novas cultivares de goiabeira. In: Congresso brasileiro de fruticultura, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: SBF p.524- 528, 1984.

PEREIRA, F. M.; MARTINEZ, JUNIOR, H. **Goiabas para industrialização**. Jaboticabal: UNESP, 142p, 1986.

PEREIRA, F.M. **A cultura da goiabeira**. Jaboticabal: Funep. 1995, 47p.

PEREIRA, F. M.; NACHTIGAL, J. C. Melhoramento da goiabeira. In: ROZANE, D. E.; COUTO, F. A. d'A. **Cultura da goiabeira: tecnologia e Mercado**. Vicososa: UFV, 2003. p. 53-78.

PEREIRA, F.M.; NACHTIGAL, J.C. **Cultura da goiabeira á comercialização** – Jaboticabal: FCAV, Capes, CNPQ, FAPESP, Fundunesp, SBF, 2009, 284p.;il, vol.2.

PERSSON, H. Estimating genetic variability in horticultural crop species at different stages of domestication.30p. 2001 Tese de doutorado. University and the United States- North Carolina State.

PIO CORREA, M. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, p.140-144, 1926.

PIRES, L. L.; VELOSO, V. da R. S.; NAVES, R. V.; FERREIRA, G. A. Moscasdas- frutas associadas aos frutos de araçá, *Psidium guineense* S.W. e *Psidium australe* Camb. nos Cerrados do Brasil Central. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2002, Belém, PA. **Anais...** Belém: Embrapa: SBF, 2002. Disponível em CD ROM.

POPENOE, W. **Manual of tropical and subtropical fruits**. New York; Mac Millan, 1974. 278p.

RASEIRA, A.; RASEIRA, M. C. B.; AUGUSTIM, E.; CHOER, E. Conservação e caracterização de germoplasma de fruteiras nativas da Região Sul do Brasil. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA E CARIBE, 3., 2001, Londrina, PR. **Anais...** Londrina: IAPAR: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. p. 387-388.

RASEIRA, A.; RASEIRA, M. C. B. Araçá Ya-cy. In: DONADIO, L. C. (Ed.). **Novas variedades brasileiras de frutas**. Jaboticabal: SBF, 2000b. p. 42-43.

RASEIRA, M. C. B.; RASEIRA, A. Araçá Yrapuã. In: DONADIO, L. C. (Ed.). **Novas variedades brasileiras de frutas**. Jaboticabal: SBF, 2000a, p. 40-41.

RAMMAH, A.; HIRSCHMANN, H. *Meloidogyne mayaguensis* n. sp. (*Meloidogyne*), a root-knot nematode from Puerto Rico. **Journal of Nematology**, v.20, n.1, p. 58-69, 1988.

REVELES, L.R.; SAENZ, L.A.; ESPARZA, E.; CABRAL, F.J. Polimorfismo de ADN genómico em 12 selecciones de guayabo (*Psidium guajava* L) del banco de germoplasma del campo experimental “Los Cañones”. In: **Simposio Internacional de la guayaba (México)** p.248-252. 2003.

RITZINGER, C. H. S.; FANCELLI, M. Manejo integrado de nematoides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 28 (2): 331-338, 2006.

RYE B. Chromosome number variation in the Myrtaceae and its taxonomic implications. **Australian Journal of Botany** v.27, n.7, p. 547-573, 1979.

ROZANE, D. E.; COUTO, F. A. d`A.; **Cultura da goiabeira. Tecnologia e mercado.** Vicosa: UFV, 2003, 402p.

SANABRIA, H.L.; GARCIA, M.A. Arboles nativos de *Psidium guajava* (guayaba) en el Valle del Cauca. *Acta Agronomica (Colombia)* v.55, n.3, p. 27-38, 2006.

SANTOS, M.S.; PETKOWICZ, C.L.O.; WOSIACKI, G; NOGUEIRA, A.; CARNEIRO, E.B.B.; Caracterização do suco de araçá vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) extraído mecanicamente e tratado enzimaticamente. **Acta Sci. Agron.** v.29, n.2, p. 617-621, 2007a.

SASSER, J.N.; KEIRBY, M. F. **Crop cultivars resistant to root-knot nematodes *Meloidogyne spp.* with information on seed sources.** Cooperative Publication of the Department of Plant Pathology-North Carolina State University and the United States Agent for International Development, Raleigh, 1979, 24p.

SILVA, J.F.V.; CARNEIRO, R.G. Reacao de adubos verdes de verao e de inverno as racas 1, 2 e 4 de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia brasileira**, v.16,n.1, p.9-18, 2000.

SILVA, G.S. **Cultura da goiabeira á comercialização** – Jaboticabal: FCAV, Capes, CNPQ, FAPESP, Fundunesp, SBF, 2009, 284p.;il, vol.2.

SOUZA, R.M.; NOGUEIRA, M.S.; LIMA, I.M.; MELARATO, M.; DOLINSKI, C. M. Manejo de nematoides-das-galhas da goiabeira em Sao Joao da Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros. **Nematologia Brasileira**, v.30, n.12, p. 165-169, 2007.

STTEBINS, G. L. **‘Variation and Evolution in Plants’**. Columbia Univ. Press, New York. 1950. 135p.

SUNIL, K. L. DNA markers in plant improvement: An overview. **Biotechnology Advances**, v. 17, n.14, p. 143-182, 1999.

SYBENGA, J. **Cytogenetics in plant breeding**. New York. 1998. 469p.
TAYLOR, D.T.; SASSER, J. N. **Biología identificación y control de los nematodos de nódulo de la raíz (*Meloidogynes* species)**. A Coop. Public of the Depart. Pl. Pathology, N. Carolina St. Univ. and USAID. 1983, 111p.

TORRES, G.R.C.; COVELLO, V.N.; SALES JUNIOR, R.; PEDROSA, E.M.R.; MOURA, R. *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* no Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.5, p. 570, 2004.

VALDÉS-INFANTE, J.; BECKER, D.; RODRIGUÉZ, N.; VELÁZQUEZ, B.; GONZÁLES, G.; SOURD, D.; RODRIGUÉZ, L.; RITTER, E.; ROHD, W. Molecular characterization of Cuban accessions of guava (*Psidium guajava* L) establishment of a first molecular linkage map and mapping of QTLs for vegetative characters. J. Genet. & Breed. **Scientia horticulturae** v.57, n.23, p. 349-358, 2003.

VAN VUUREN, S.F. Antimicrobial activity of South African medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, n.5, p. 462-472, 2008.

VIGLIERCHIO, D. R. The world of nematodes: a fascinating component of the animal kingdom. In: RITZINGER, C. H. S. & FANCELLI, M. Manejo integrado de nematoides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.28, n.15, p.331-338, 1991.

WATANABE, H.S. **Cultura da goiabeira á comercialização** – Jaboticabal: FCAV, Capes, CNPQ, FAPESP, Fundunesp, SBF, 2009, 284p.;il, vol.2.

WILSON, P.G., O'BRIEN, M.M., HESLEWOOD, M.M.; QUINN, C.J.
Relationships within Myrtaceae sensu lato based on a matK phylogeny. **Plant Systematics and Evolution**, 2005, 251p.

WÜNSCH, A.; HORMAZA, J.I. Characterization of variability and genetic similarity of European pear using microsatellite loci developed in apple. **Scientia horticultrae**, v.113, n.16, p. 37-43, 2007.

CAPÍTULO 2

RESISTÊNCIA DE GOIABEIRAS (*Psidium guajava*) E ARAÇAZEIROS (*Psidium* sp.) A *M. enterolobii*

RESUMO

A meloidoginose da goiabeira, causada por *Meloidogyne enterolobii*, é hoje considerado o principal problema fitossanitário desta cultura em todo o país, pois a sua incidência resulta em acentuada queda de produtividade e, na maioria das vezes, a morte das plantas em médio prazo. Visando seu controle, objetivou-se neste trabalho identificar fontes de resistência em goiabeira (*Psidium guajava* L) e araçazeiro (*Psidium* sp). Foram avaliados onze genótipos oriundos do campus da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e de regiões próximas ao município de Lavras (MG). As sementes foram coletadas de frutos fisiologicamente maduros e germinadas em piscinas hidropônicas. Ao atingirem 12 cm de altura foram transferidas para casa de vegetação, em vasos individuais, e mantidas a temperatura entre 18-38°C. Após quinze dias foram inoculados individualmente com suspensão de 10.000 ovos e J2 juvenis do segundo estágio de *M. enterolobii* e avaliadas após 120 dias. As reações dos hospedeiros foram enquadradas nos parâmetros estabelecidos pelo fator de reprodução FR, estimado pelo quociente Pf/Pi, onde (Pf) representa a população final e (Pi) a população inicial. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com 11 genótipos, uma espécie de nematóide e seis repetições, sendo duas plantas em cada genótipo adicionadas como controle. Quatro meses depois, foram avaliados os teores foliares de macro e micronutrientes e grau de infecção de cada genótipo. A produção média de ovos e J2 de *M. enterolobii* variou de 200 a 428.146,1 e os fatores de reprodução (FR) médios variaram de 0,02(ALU1) a 42,81(A-PASTO). Os genótipos de araçá (*Psidium* spp) AUFLA1, AUFLA4, AUFLA5 e APASTO e os genótipos de goiaba (*P. guajava*) G-ROXA e G-AMAR foram considerados suscetíveis. Os genótipos de araçá ALU1, ALU2, ALU3, AROXO-C e AROXO-U mostraram-se resistentes. Foi possível associar os sintomas causados por *M. enterolobii* com variações de alguns teores de macro e micronutrientes o que poderá vir a auxiliar novas estratégias de controle. A não identificação *P. guajava* resistente a *M. enterolobii* caracteriza-se em ameaça a continuidades dos pomares de goiabas comerciais.

Palavras-chave: Genótipos. Nematóide de galhas. Macronutrientes. Resistência.

ABSTRACT

Guava tree root-knot, caused by *Meloidogyne enterolobii*, is today regarded as the main phytosanitary problem of this crop all over the country, for its incidence results into marked yield fall and most times the death of the plant on a medium term. Aiming at its control, it was intended in this work to identify resistance sources of on guava tree *Psidium guajava* L and Surinam cherry tree *Psidium* sp. Eleven genotypes coming from the campus of the Federal University of Lavras (UFLA) (Universidade Federal de Lavras (UFLA)) and regions close to Lavras town (MG). The seeds were collected from physiologically ripe fruits and germinated in hydroponic pools. On reaching 12 cm high, they were transferred to the greenhouse in individual pots and kept at the temperature between 18-38°C. After fifteen days, they were inoculated with a suspension of 10,000 eggs and J2 of *M. enterolobii* and evaluated after 120 days. The hosts' reactions were fitted in the parameters established by the reproduction factor FR, estimated by the Pf/Pi quotient, where Pf stands for the final population and Pi the initial population. The design utilized was the completely randomized with 11 genotypes, one nematode species and six replicates, that is, two plants in each genotype being added as a control. Four months later, the leaf contents of macro and micronutrients and degree of infection of each genotype were evaluated. The average yield of eggs and J2 of *M. enterolobii* ranged from 200 to 428.146.1 and the average reproduction factors (FR) varied from 0.02(ALU1) to 42.81(A-PASTO). The genotypes of Surinam cherry (*Psidium* spp) AUFLA1, AUFLA4, AUFLA5 and APASTO and the genotypes of guava (*P. guajava*) G-ROXA and G-AMAR were regarded as susceptible. The Surinam cherry genotypes ALU1, ALU2, ALU3, AROXO-C and AROXO-U proved resistant. It was possible to associate the symptoms caused by *M. enterolobii* with variations of some contents of macro and micronutrients which will be able to be to come to help new control strategies. The non-identification of *P. guajava* resistant to *M. enterolobii* is characterized in threat to the continuity of the commercial guava orchards.

Keywords: Genotypes. Root-knot nematode. Macronutrients. Resistance.

1 INTRODUÇÃO

O cultivo da goiabeira vem sendo severamente ameaçada pela presença nos pomares do nematóide de galha da goiabeira (*Meloidogyne enterolobii*), encontrado nas principais regiões produtoras, comprometendo a produção, chegando a causar a morte da planta (TORRES et al., 2005). O primeiro registro de *M. enterolobii* no Brasil ocorreu no município de Petrolina (PE), nos perímetros irrigados de Curaçá e Maniçoba (BA), causando danos severos em plantios comerciais de goiabeira (CARNEIRO et al., 2001). A partir de então, esse nematóide vem sendo detectado parasitando goiabeiras em plantios comerciais de outros estados.

Os danos e perdas causados por *M. enterolobii* em goiabeira são tão severos que, na região de Petrolina, ocorreu redução da área plantada de 6.000 ha para 2.500 ha (CARNEIRO et al., 2006). Uma vez instalado o nematóide na goiabeira, o controle torna-se difícil, sendo a melhor medida de controle o uso de porta-enxertos resistente (CARNEIRO et al., 2007).

Plantas atacadas pelo nematóide das galhas apresentam a formação de galhas nas raízes, a paralisação do crescimento e morte de pontas de raízes. As plantas podem apresentar depauperamento e declínio lento, deficiência nutricional, diminuição do tamanho das folhas e frutos e redução da produtividade (GOMES et al., 2008).

A redução no vigor das goiabeiras parasitadas por *M. enterolobii* é consequência das alterações ocorridas no sistema radicular, e essa infecção desencadeia uma síndrome caracterizada por sintomas de desbalanço nutricional (TIHOHOD, 1993).

As folhas são importantes centros metabólicos e a análise foliar reflete o estado nutricional da planta com mais fidelidade. Por isso, a análise foliar é uma

das melhores técnicas disponíveis para avaliar o estado nutricional das plantas (FACHINELLO et al., 2008).

O objetivo deste trabalho foi identificar genótipos goiabeira e araçazeiro resistentes a *M. enterolobii*, com vistas à utilização como porta-enxertos compatíveis com as variedades comerciais de goiabeira e também obter o equilíbrio dos teores foliares de macronutrientes e micronutrientes das plantas avaliadas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

O trabalho foi conduzido no Setor de Hidroponia do Departamento de Ciência do Solo e em casa de vegetação do laboratório de Nematologia do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), localizada no município de Lavras, MG, o clima é do tipo Cwb. As sementes foram coletadas de frutos fisiologicamente maduros de dois genótipos de goiabeira (*P. guajava*) e nove genótipos de araçazeiro (*Psidium* sp), oriundos de regiões próximas ao município de Lavras (MG). As sementes foram semeadas de duas a quatro em tubetes plásticos, com 5 cm de diâmetro e 20 cm de altura, contendo vermiculita como substrato. Em seguida, foram colocados em suportes próprios e transferidos para caixas rasas niveladas, aqui denominadas de piscinas, onde passaram a receber solução nutritiva proposta por Faquin; Chalfun (2009). A irrigação e a nutrição das plantas foram realizadas por capilaridade da própria vermiculita. Em todo o período experimental, foi utilizada solução nutritiva. A reposição de nutrientes na solução nutritiva do reservatório foi efetuada por meio da condutividade elétrica, ajustando-a diariamente pela adição de soluções estoque de macro e micronutrientes, e o pH da solução nutritiva foi mantido entre 5,5 e 6,5.

Após as mudas alcançarem 8 a 10 cm de altura, foi realizado o desbaste deixando-se apenas as mais vigorosas. Ao atingirem, 12 cm de altura foram transferidas para casa de vegetação, onde foram transplantadas para vasos plásticos de 3,5L contendo casca de *Pinus* como substrato. As temperaturas no interior do ambiente protegido com polietileno de 120µm variaram-se de 18 a 38°C.

Quinze dias após a transferência, as mudas tiveram suas alturas aferidas e foram inoculadas com *M. enterolobii* conforme procedimento a seguir.

2.2 Preparo do inóculo

O inóculo, cedido pela Embrapa Semi-árido – CPATSA -Petrolina-PE, foi inoculado em raízes de tomateiro, linhagem 684, reconhecida como resistente a *M. incognita* e *M. javanica*. Dois meses após a inoculação, as raízes dos tomateiros foram cuidadosamente retiradas do substrato, lavadas e cortadas em pequenos segmentos de 1-2 cm, seguindo-se a extração de ovos conforme a técnica descrita por Hussey & Barker (1973). O método consiste, basicamente, em acondicionar pedaços de raízes em recipiente de vidro com capacidade para 500 mL, adicionando-se 200 mL de uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5% e agitando-se no liquidificador por 40 segundos. A suspensão foi imediatamente passada em peneiras de 200 e 500 Meshes, tipo “US Standard Series”. Os ovos (J2 estágio infectivo) que ficaram retidos na última peneira foram lavados em água corrente para remoção dos resíduos de hipoclorito de sódio e transferidos, com a ajuda de uma piceta, para um vidro com tampa plástica de 50 ml. Dessa suspensão foi retirada amostra de 1 mL para contagem dos ovos e J2 com auxílio da câmara de contagem de Peters, por meio do microscópio fotônico.

2.3 Inoculação com o nematóide *M. enterolobii*

Separadas em três blocos, uniformizados pelo desenvolvimento fisiológico, as mudas dos araçazeiros e goiabeiras foram inoculadas com 10.000 ovos e J2/planta após 15 dias do transplântio. O inóculo foi depositado em quatro pequenas depressões de 5 cm no solo, distanciados 2 cm do colo da planta, com auxílio de uma pipeta de graduação automática (Macroset). As

plantas foram convenientemente espaçadas na casa de vegetação, recebendo regas quinzenais, de solução nutritiva proposta por Faquin & Chalfun (2009) e demais tratos culturais durante um período experimental de quatro meses.

2.4 Avaliação e análise dos dados

A análise do comportamento dos hospedeiros, em relação ao parasitismo de *M. enterolobii*, ocorreu aos 120 dias após a inoculação. Para isto, as raízes das plantas foram processadas pela técnica de Hussey & Barker (1973) e a população de ovos, juvenis e adultos foi estimada com auxílio da câmara de contagem de Peters, por meio do microscópio fotônico. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com 11 genótipos, uma espécie de nematóide e seis repetições, sendo três plantas de cada genótipo adicionadas como controle, não sendo inoculadas. Os dados obtidos constituíram a população final (P_f) e foram utilizados na determinação do fator de reprodução (FR), conforme Oostenbrink (1966), definido pela relação P_f/P_i , em que P_i é a população inicial. Plantas com $FR < 1$ foram consideradas resistentes e aquelas com $FR > 1$, suscetíveis.

A análise estatística da variável fator de reprodução foi realizada utilizando do software R (2008). A homogeneidade e normalidade da distribuição amostral foram analisadas pelos testes de Bartlett e Shapiro-Wilks, respectivamente. Quando verificado que os dados não seguiam uma distribuição normal e não possuíam a mesma variância, realizou-se a análise de variância não-paramétrica, usando o teste de Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade.

2.5 Obtenção da matéria seca

As folhas foram colhidas secas em estufa de circulação forçada de ar, a 60°–65°C, até peso constante e, posteriormente, pesadas. Desta forma obteve a matéria seca foi moída em moinho tipo Willey, com malha de 20 mesh. Após a moagem, os teores foliares dos macronutrientes e micronutrientes foram analisados quimicamente, de acordo com Malavolta et al. (1997). O variável teor foliar foi analisado estatisticamente pelo programa Sisvar (FERREIRA, 2000), realizando-se a análise de variância e o teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, para comparação de médias.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção média de ovos de *Meloidogyne enterolobii* nas plantas testadas variou de 200 a 428.146,1 e os fatores de reprodução (FR) médios variaram de 0,02(ALU1) a 42,81(A-PASTO) (Tabela 1).

Tabela 1 Número total de ovos, fator de reprodução (FR) e reação (R=resistente; S=suscetível) em raízes de genótipos de araçazeiro e goiabeira inoculados com *Meloidogyne enterolobii*

Genótipos	Nome comum	Nome científico	Nº total de ovos	FR	Reação
AUFLA1	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	90.620,4	9,02 (45,50) ¹ d	S
AUFLA4	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	28.271,8	2,83(39,17) e	S
AUFLA5	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	17.289,3	1,73(33,83) f	S
ALU1	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	200	0,02(8,67) h	R
ALU2	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	1450	0,15(22,25)g	R
ALU3	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	2755	0,28(26,5)g	R
A-PASTO	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	428.146,1	42,81(62,4)a	S
AROXO-C	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	200	0,02(8,00)h	R
AROXO-U	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	181,67	0,18(12,08)h	R
G-ROXA	Goiabeira-roxa	<i>Psidium guajava</i>	299.366,3	29,94(57,17)b	S
G-AMAR	Goiabeira-amarela	<i>Psidium guajava</i>	222.079,3	22,21(52,33)c	S

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal Wallis ao nível de 5% de probabilidade. ¹ Rank: Classificação obtida conforme metodologia de Kruskal-Wallis.

Os genótipos de araçazeiro (*Psidium* sp) AUFLA1, AUFLA4, AUFLA5 e APASTO e os genótipos de goiabeira (*P. guajava*) G-ROXA e G-AMAR

foram considerados suscetíveis. Os genótipos de araçá ALU1, ALU2, ALU3, AROXO-C e AROXO-U mostraram-se resistentes (Tabela 1).

Almeida et al.(2009), também avaliando genótipo de goiaba-roxa (*P. guajava*), o identificaram como suscetível corroborando com os dados constatados do presente trabalho. Neste mesmo artigo os autores relatam que dos 21 acessos de goiabeira (*P. guajava*), um acesso da goiabeira da Costa Rica (*P. friedrichsthalianum*) e sete araçazeiro (*Psidium* sp), considerando o fator de reprodução, identificaram apenas quatro acessos (todos de araçazeiro) eram resistentes ao *M. enterolobii*.

Também Burla (2007), Carneiro et al. (2007) e Scherer (2009), dentre outros, obtiveram elevados valores de fator de reprodução ao avaliarem materiais de goiabeira a esse nematóide. Até a presente data, resistência a *M. enterolobii* em genótipos de *P. guajava* ainda não foi relatada, fato este que ameaça os pomares comerciais. Carneiro et al. (2007) encontraram resistência moderada em araçás da espécie *P. friedrichsthalianum* e resistência mais acentuada em três acessos de *P. cattleaynum*. Ao que tudo indica a fonte de resistência genética ao *M. enterolobii* encontra-se, inicialmente, nos araçazeiros da espécie *P. cattleaynum*, e por serem muito recentes os estudos é necessário avaliar outras espécies de araçazeiro.

Considerando o Brasil um dos centros de origem da goiabeira, mais *screenings* devem ser realizados com acessos de *Psidium* que obtiveram FR<1 para selecionar porta-enxertos com alta compatibilidade e sobrevivência em nível de campo, quando enxertados com cultivares comerciais como ‘Paluma’ e ‘Pedro Sato’.

Nas Tabelas 2 e 3 são apresentados os teores foliares de macro e micronutrientes nos genótipos de araçazeiro e goiabeira inoculados com *M. enterolobii*.

Tabela 2 Teores foliares de macronutrientes (g/kg^{-1}) genótipos de goiabeira e araçazeiro, aos 120 dias após a inoculação com *Meloidogyne enterolobii*

Nome comum	Nome científico	N	P	K	Ca	Mg	S
AUFLA1	<i>Psidium</i> sp.	24,50 b	6,14 b	6,72 a	12,48 a	6,53 a	4,48 b
AUFLA4	<i>Psidium</i> sp.	33,83 a	4,85 c	7,03 a	8,22 c	4,69 b	2,87 e
AUFLA5	<i>Psidium</i> sp.	32,83 a	8,85 a	6,79 a	10,74 b	4,98 b	4,91 a
ALU1	<i>Psidium</i> sp.	19,17 d	1,85 f	6,45 a	8,63 c	3,35 d	2,67 e
ALU2	<i>Psidium</i> sp.	19,50 d	2,13 e	6,48 a	8,84 c	3,41 d	2,83 e
ALU3	<i>Psidium</i> sp.	20,67 d	1,84 f	6,39 a	7,32 d	3,68 d	2,84 e
A-PASTO	<i>Psidium</i> sp.	19,67 d	1,89 f	6,54 a	7,07 d	2,14 f	2,51 e
AROXXO-C	<i>Psidium</i> sp.	18,50 d	6,03 b	6,92 a	10,83 b	2,84 e	3,51 d
AROXXO-U	<i>Psidium</i> sp.	21,33 c	4,42 d	6,45 a	11,08 b	2,11 f	3,41 d
G-ROXA	<i>Psidium guajava</i>	22,50 c	2,62 e	7,66 a	6,67 d	2,58 e	4,02 c
G-AMAR	<i>Psidium guajava</i>	21,67 c	2,47 e	6,21 a	10,93 b	4,32 c	4,18 c

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

Observa-se, na Tabela 2, que para o teor foliar do K, não houve diferença significativa entre os genótipos.

Tabela 3 Teores foliares de micronutrientes (mg/kg^{-1}) de genótipos de goiabeira e araçazeiro, aos 120 dias após a inoculação com *Meloidogyne enterolobii*

Nome comum	Nome científico	B	Cu	Fe	Mn	Zn
AUFLA1	<i>Psidium</i> sp.	51,22 c	2,53 c	319,57 b	141,77 e	28,66 a
AUFLA4	<i>Psidium</i> sp.	50,17 c	3,67 b	321,38 b	137,93 e	23,22 c
AUFLA5	<i>Psidium</i> sp.	52,20 c	2,63 c	288,41 c	149,47 e	25,45 b
ALU1	<i>Psidium</i> sp.	38,26 d	2,72 c	502,48 a	192,53 d	26,73 b
ALU2	<i>Psidium</i> sp.	43,13 d	3,23 b	417,46 b	294,34 c	31,28 a
ALU3	<i>Psidium</i> sp.	51,61 c	2,26 c	495,83 a	370,64 b	27,84 a
A-PASTO	<i>Psidium</i> sp.	44,63 d	2,17 c	241,03 c	195,85 d	19,74 d
AROXO-C	<i>Psidium</i> sp.	55,16 b	6,47 a	258,58 c	522,18 a	22,74 c
AROXO-U	<i>Psidium</i> sp.	56,57 b	6,10 a	242,12 c	363,94 b	25,85 b
G-ROXA	<i>Psidium guajava</i>	69,30 a	3,76 b	271,12 c	314,38 c	27,97 a
G-AMAR	<i>Psidium guajava</i>	69,30 a	3,76 b	271,12 c	314,38 c	27,97 a

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Já os genótipos AUFLA1, A-PASTO, G-ROXA e G-AMAR foram bons hospedeiros ($\text{FR} > 1$) de *M. enterolobii*, apresentaram menor teor foliar de N, P, Ca, Mg e Fe comparados com as plantas controle (Tabela 4). Entretanto o nutriente Mn nos genótipos G-ROXA e G-AMAR, houve maior acúmulo comparado com os genótipos controle (Tabela 4).

Tabela 4 Comparação dos teores foliares de macro (g/kg^{-1}) e micronutrientes (mg/kg^{-1}) de genótipos controle, sem inoculação e com inoculação a *Meloidogyne enterolobii* analisados aos 120 dias

Nome comum	Nome científico	Reação	N	P	Ca	Mg	Fe	Mn
AUFLA1	<i>Psidium</i> sp.	S	24,50b	6,14b	12,48a	6,53a	319,57b	
AUFLA1	<i>Psidium</i> sp.	G.C	30,00	8,08	14,92	6,71	336,7	
A-PASTO	<i>Psidium</i> sp.	S	19,67d	1,89f	7,07d	2,14f	241,03c	
A-PASTO	<i>Psidium</i> sp.	G.C	23,00	3,01	9,42	3,55	261,51	
G-ROXA	<i>P. guajava</i>	S	22,50c	2,62e	6,67d	2,58e	271,12c	314,38 c
G-ROXA	<i>P. guajava</i>	G.C	26,00	3,53	7,76	5,58	319,30	243,66
G-AMAR	<i>P. guajava</i>	S	21,67c	2,47e	10,93b	4,32c	271,12c	314,38 c
G-AMAR	<i>P. guajava</i>	G.C	35,00	6,19	12,36	6,29	344,30	101,92

Segundo Ferraz; Monteiro, (1995), com a alta infecção do sistema radicular das plantas, o juvenil toma a forma salsichóide, perde a mobilidade e passa a se alimentar da raiz, ocorrendo o parasitismo, onde resultam em severo comprometimento à absorção e transporte de água e nutrientes nas plantas. No entanto, os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com os autores, onde apresentou menor absorção de nutrientes.

Nos genótipos ALU1, ALU2, ALU3, AROXO-C e AROXO-U (Tabela 1) verificou-se $FR < 1$, mostrando que esses materiais são resistentes e que também apresentaram teores de macro e micronutrientes equilibrados, comparando-se com os genótipos controle (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5 Comparação de teores foliares de macro (g/kg^{-1}) de genótipos controle, sem inoculação e com inoculação a *Meloidogyne enterolobii* analisados aos 120 dias

Nome comum	Nome científico	Genótipos	N	P	K	Ca	Mg	S
ALU1	<i>Psidium</i> sp.	G.I	19,17d	1,85f	6,45a	8,63c	3,35d	2,67e
ALU1	<i>Psidium</i> sp.	G.C	20,50	1,81	6,50	9,76	3,35	3,63
ALU2	<i>Psidium</i> sp.	G.I	19,50d	2,13 e	6,48a	8,84c	3,41d	2,83e
ALU2	<i>Psidium</i> sp.	G.C	22,00	2,10	6,52	8,79	3,45	2,91
ALU3	<i>Psidium</i> sp.	G.I	20,67d	1,84 f	6,39a	7,32d	3,68d	2,84e
ALU3	<i>Psidium</i> sp.	G.C	20,60	1,92	6,45	7,29	3,66	2,87
AROXO-C	<i>Psidium</i> sp.	G.I	18,50d	6,03b	6,92a	10,83b	2,84e	3,51d
AROXO-C	<i>Psidium</i> sp.	G.C	19,00	5,96	6,87	10,96	2,88	3,50
AROXO-U	<i>Psidium</i> sp.	G.I	21,33c	4,42d	6,45a	11,08b	2,11f	3,41d
AROXO-U	<i>Psidium</i> sp.	G.C	22,49	4,52	6,49	10,99	2,08	3,46

Nome científico *Psidium*, sp= araçazeiro

Genótipos G.I= Genótipo inoculado

Genótipos G.C= Genótipo controle/ sem inoculação

Tabela 6 Comparação de teores foliares de micro (mg/kg^{-1}) de genótipos controle, sem inoculação e com inoculação a *Meloidogyne enterolobii* analisados aos 120 dias

Nome comum	Nome científico	Genótipos	B	Cu	Fe	Mn	Zn
ALU1	<i>Psidium</i> sp.	G.I	38,26 d	2,72 c	502,48 a	192,53 d	26,73 b
ALU1	<i>Psidium</i> sp.	G.C	38,56	2,70	500,00	193,72	26,99
ALU2	<i>Psidium</i> sp.	G.I	43,13 d	3,23 b	417,46 b	294,34 c	31,28 a
ALU2	<i>Psidium</i> sp.	G.C	43,06	3,20	415,96	295,27	31,75
ALU3	<i>Psidium</i> sp.	G.I	51,61 c	2,26 c	495,83 a	370,64 b	27,84 a
ALU3	<i>Psidium</i> sp.	G.C	51,73	2,28	499,54	368,31	27,80
AROXO-C	<i>Psidium</i> sp.	G.I	55,16 b	6,47 a	258,58 c	522,18 a	22,74 c
AROXO-C	<i>Psidium</i> sp.	G.C	52,15	6,41	256,84	523,60	22,99
AROXO-U	<i>Psidium</i> sp.	G.I	56,57 b	6,10 a	242,12 c	363,94 b	25,85 b
AROXO-U	<i>Psidium</i> sp.	G.C	57,21	6,22	239,81	364,43	25,68

Nome científico *Psidium*, sp= araçazeiro

Genótipos G.I= Genótipo inoculado

Genótipos G.C= Genótipo controle/ sem inoculação

Os genótipos AUFLA4 e AUFLA5 (Tabela 2), com FR >1, apresentaram menor teor foliar de Mg, enquanto outros nutrientes mantiveram os teores equilibrados quando comparados com a planta controle (Tabela 3 e 7).

Tabela 7 Médias de teores foliares de macro (g/kg^{-1}) e micronutrientes (mg/kg^{-1}) de genótipos controle, sem inoculação *Meloidogyne enterolobii* analisados aos 120 dias

Nome comum	Nome científico	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
AUFLA1	<i>Psidium</i> sp.	30,00	8,08	7,21	14,92	6,71	4,47	52,74	2,80	336,7	143,1	29,63
AUFLA4	<i>Psidium</i> sp.	33,66	4,85	7,25	10,19	5,85	3,02	55,11	3,39	353,49	135,77	25,70
AUFLA5	<i>Psidium</i> sp.	32,50	9,68	6,99	11,52	8,20	5,41	55,19	2,89	299,63	142,93	26,39
ALU1	<i>Psidium</i> sp.	20,50	1,81	6,50	9,76	3,35	3,63	38,56	2,70	500,00	193,72	26,99
ALU2	<i>Psidium</i> sp.	22,00	2,10	6,52	8,79	3,45	2,91	43,06	3,20	415,96	295,27	31,75
ALU3	<i>Psidium</i> sp.	20,60	1,92	6,45	7,29	3,66	2,87	51,73	2,28	499,54	368,31	27,80
APASTO	<i>Psidium</i> sp.	23,00	3,01	6,59	9,42	3,55	3,00	50,61	2,15	261,51	197,01	22,06
AROXO-C	<i>Psidium</i> sp.	19,00	5,96	6,87	10,96	2,88	3,50	52,15	6,41	256,84	523,60	22,99
AROXO-U	<i>Psidium</i> sp.	22,49	4,52	6,49	10,99	2,08	3,46	57,21	6,22	239,81	364,43	25,68
G-ROXA	<i>Psidium guajava</i>	26,00	3,53	7,64	7,76	5,58	3,95	67,28	4,01	319,30	243,66	29,37
G-AMAR	<i>Psidium guajava</i>	35,00	6,19	6,45	12,36	6,29	4,40	56,51	3,37	344,30	101,92	31,47

A presença de fitonematóides no sistema radicular, além de diminuir a produção, proporciona o declínio generalizado da planta, com sintomas nas raízes (galhas e apodrecimento) e na parte aérea (bronzamento, amarelecimento, queima dos bordos e queda das folhas. Por outro lado, o desequilíbrio de nutrientes pode predispor as plantas ao ataque de patógenos e contribuir para uma maior severidade de algumas doenças. Plantas bem nutridas suportam melhor a presença de patógenos. Os nutrientes afetam tanto o hospedeiro quanto o patógeno, de forma direta ou indiretamente (Silva, 2009).

De acordo com Gomes et al. (2008), em goiabeiras, os sintomas causados por *M. enterolobii* estão associados à deficiência de nitrogênio, fósforo e potássio. Além disso, as plantas apresentam uma tendência a menos absorção de cálcio, magnésio e acúmulo de manganês. No presente trabalho, os sintomas causados nas plantas estão em concordância com os autores, exceto para o K, que apresentou comportamento equilibrado.

Com base nos dados apresentados nas Tabelas 8 e 9, estabeleceram-se a ordem decrescente de teor para macronutrientes e micronutrientes, que poderão ser utilizados como referenciais de exigência nutricional de plantas de goiabeira (*P. guajava*) e araçazeiro (*Psidium, sp.*).

Tabela 8 Teores foliares de macronutrientes (g/kg^{-1}) e micronutrientes (mg/kg^{-1}) em ordem decrescente de goiabeira e araçazeiro das plantas controle, sem inoculação com *Meloidogyne enterolobii* analisados aos 120 dias

Nome comum	Nome científico	Macronutrientes	Micronutrientes
Araçazeiro AUFLA1	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>K>P>Mg>S	Fe>Mn>B>Zn>Cu
Araçazeiro AUFLA4	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>K>Mg>P>S	Fe>Mn>B>Zn>Cu
Araçazeiro AUFLA5	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>P>Mg>K>S	Fe>Mn>B>Zn>Cu
Araçazeiro ALU1	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>K>Mg>S>P	Fe>Mn>B>Zn>Cu
Araçazeiro ALU2	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>K>Mg>S>P	Fe>Mn>B>Zn>Cu
Araçazeiro ALU3	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>K>Mg>S>P	Fe>Mn>B>Zn>Cu

“Tabela 8, conclusão”

Araçazeiro A-PASTO	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>K>S>Mg>P	Fe>Mn>B>Zn>Cu
Araçazeiro AROXO-C	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>K>P>S>Mg	Fe>Mn>B>Zn>Cu
Araçazeiro AROXO-U	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>K>P>S>Mg	Fe>Mn>B>Zn>Cu
Goiabeira-roxa	<i>P. guajava</i>	N>Ca>K>S>P>Mg	Fe>Mn>B>Zn>Cu
Goiabeira-amarela	<i>P. guajava</i>	N>Ca>K>P>S>Mg	Fe>Mn>B>Zn>Cu

Observa-se na Tabela 9, houve desbalanço nutricional na ordem de exigência de macronutrientes nos teores foliares dos genótipos AUFLA1, AUFLA4, AUFLA5, Goiabeira-roxa e Goiabeira amarela comparando com a Tabela 8, sem inoculação a *M. enterolobii*. Quanto aos micronutrientes os genótipos AROXO-C, AROXO-U, Goiabeira-roxa, Goiabeira-amarela, houve uma tendência de acúmulo do nutriente Mn Tabela 9, comparados com a ordem dos genótipos sem inoculação com *M. enterolobii* (Tabela 8).

Tabela 9 Teores foliares de macronutrientes (g/kg^{-1}) e micronutrientes (mg/kg^{-1}) em ordem decrescente de goiabeira e araçazeiro, aos 120 dias após a inoculação com *Meloidogyne enterolobii*

Nome comum	Nome científico	Macronutrientes	Micronutrientes
Araçazeiro AUFLA1	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>K>Mg>P >S	Fe>Mn>B>Zn>Cu
Araçazeiro AUFLA4	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>K>P>Mg>S	Fe>Mn>B>Zn>Cu
Araçazeiro AUFLA5	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>P>K >S>Mg	Fe>Mn>B>Zn>Cu
Araçazeiro ALU1	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>K>Mg>S>P	Fe>Mn>B>Zn>Cu
Araçazeiro ALU2	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>K>Mg>S>P	Fe>Mn>B>Zn>Cu
Araçazeiro ALU3	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>K>Mg>S>P	Fe>Mn>B>Zn>Cu
Araçazeiro A-PASTO	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>K>S>Mg>P	Fe>Mn>B>Zn>Cu
Araçazeiro AROXO-C	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>K>P>S>Mg	Mn>Fe>B>Zn>Cu
Araçazeiro AROXO-U	<i>Psidium</i> sp.	N>Ca>K>P>S>Mg	Mn>Fe>B>Zn>Cu
Goiabeira-roxa	<i>P. guajava</i>	N>K>Ca>S>Mg>P	Mn>Fe>B>Zn>Cu
Goiabeira-amarela	<i>P. guajava</i>	N>Ca>K>Mg>S>P	Mn>Fe>B>Zn>Cu

Quanto ao micronutriente Mn (Tabela 9), estabeleceu-se padrão errático na ordem dos genótipos AROXO-C, AROXO-U, Goiabeira-roxa, Goiabeira-amarela comparados com os genótipos que apresentaram sintoma leve de infectividade a *M. enterolobii* ou dos genótipos sem inoculação (Tabela 8).

A composição mineral de plantas parasitadas por nematoides, usualmente, difere da composição de plantas não-parasitadas. Essas alterações na composição mineral não seguem um padrão rígido, podendo ocorrer, em alguns casos, uma diminuição ou acúmulo ou, ainda, permanecerem inalterados os teores de determinados nutrientes (GOMES et al. (2008).

4 CONCLUSÕES

Entre os 11 genótipos de *Psidium* spp. avaliados quanto à reação a *M. enterolobii*, cinco foram resistentes e seis suscetíveis.

Os genótipos de araçazeiro ALU1, ALU2 e ALU3 apresentaram resistência a *M. enterolobii* reforçando a necessidade de trabalhos complementares com essas espécies para uso como porta-enxerto em cultivares comerciais de goiabeira.

A absorção de macro e micronutrientes é alterada quando os genótipos de *Psidium* spp. são inoculados com o fitonematóide *M. enterolobii*.

Nos genótipos G-Roxa e G-AMAR, o teor de Mn teve sua concentração aumentada com o agravamento dos sintomas pelo ataque de *M. enterolobii*.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, E.J.; SOARES, P.L.M.; SANTOS, J.M.; MARTINS, A.B.G. Resistência de goiabeiras e araçazeiros a *Meloidogyne mayaguensis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 4, p. 421- 423, 2009.
- BURLA, R.S.; SOUZA, R.M.; GONCALVES JR, E.; MOREIRA, F.O.M. Reacao de acessos de *Psidium* spp. a *Meloidogyne mayaguensis*. XXVII CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 31, 2007, Goiânia, GO. **Anais...** CD-ROM.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; CIROTTA, P.A.; QUINTANILHA, A.P.; SILVA, D.B.; CARNEIRO, R.G. Resistance to *Meloidogyne mayaguensis* in *Psidium* spp. accessions and their grafting compatility with *P. guajava* cv. Paluma. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n.4, p.281-284, 2007.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; MOREIRA, W.A.; ALMEIDA, M.R.A.; GOMES, A.C.M.M. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.25, n2, p.223-228, 2001.
- CARNEIRO, R.G.; MONACO, A.P.A.; MORITZ, M.P.; NAKAMURA, K.C.; SCHERER, A. Identificacao de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e em plantas invasoras, em solo argiloso, no Estado do Paraná. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.30, n3, p. 293-298, 2006.
- GOMES, V.M.; SOUZA, R.M.; SILVA, M.M.; DOLINSKI, C. Caracterização do estado nutricional de goiabeiras em declínio parasitadas por *Meloidogyne mayaguensis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.32, n2, p.154-160, 2008.
- FAQUIN, V.; CHALFUN, N.N.J. **Hidromudas**: processo de produção de porta-enxerto de mudas frutíferas, florestais e ornamentais enxertadas em hidroponia (BRN.PI 0802792-7). Rio de Janeiro: INPI, 2008. Disponível em: <<http://www.patentesonline.com.br/hidromudas-processo-de-producao-de-porta-enxertos-e-mudas-frutiferas-florestais-e-226848i.html>>. Acesso em: 12 agosto 2010.

FERREIRA, D.F. Análise estatística por meio do SISVAR para Windows 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000. Proceedings da Reunião Anual, São Carlos: UFSCAR. **Anais**. 2000, p. 255-258.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematóides. In: BERGAMIM FILHO, A., KIMATI H. & AMORIM L. **Manual de fitopatologia**, Princípios e conceitos. 3 ed. São Paulo: Ceres, 1995. v. 2, p.168-201.

HUSSEY, R.S.; BARKER, K.R. A comparison of methods of collecting inoculated of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 57, n.4 p.1025-1028, 1973.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

OOSTENBRINK, M. **Major characteristic of the relation between nematodes and plants**. Medelingen Landbowhogeschool, Wageningen (Nederland), 1966, p.46.

R. DEVELOPMENT CORE TEAM (2008). **R: A language and environment for statistical computing, reference index version 2.8.0**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. 473 p.

TORRES, G.R.C.; SALES- JUNIOR, R.; NERIVANIA, V.; REHN, C.; PEDROSA, E.M.R.; R.M. MOURA. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Estado do Ceara. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, n.29, v. 1, p.105-107, 2005.

SCHERER, A. Ocorrência e hospedabilidade de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeiras e em plantas de cobertura de solo no Paraná. 2009, 64p. **Tese de Doutorado**, Universidade Estadual de Londrina, (UEL), 2009.

SILVA, G.S. **Cultura da goiabeira á comercialização** – Jaboticabal: FCAV, Capes, CNPQ, FAPESP, Fundunesp, SBF, 2009. p. 284.

CAPÍTULO 3

**NÚMERO CROMOSSÔMICO E CONTEÚDO DE DNA NUCLEAR EM
Psidium ssp. RESISTENTES E SUCETÍVEIS AO *Meloidogyne enterolobii***

RESUMO

Em *Psidium guajava* a ocorrência do número cromossômico $2n = 22$ é quase constante, mas há registros de poliploidia e disploidia em diversas espécies de *Psidium*. O objetivo do trabalho foi determinar o número de cromossomo e o conteúdo de DNA de acessos de araçazeiro e goiabeira (resistente/suscetível) frente a *M. enterolobii* que mantém alguma afinidade morfofisiológica e que possibilitassem sua utilização como porta-enxertos compatíveis para as variedades comerciais de goiabeira. Os cromossomos metafásicos foram obtidos pelo método de esmagamento em ácido acético 45% e coloração foi feita com Giemsa 2%. A determinação da quantidade de DNA foi feita por citometria de fluxo, utilizando o tampão Marry e como padrão interno de comparação a espécie *Pisum sativum*. A variação intra-específica do conteúdo de DNA ($2C$) foi da ordem de $9x$, com $2n = 22$ observado em somente uma espécie de *P. guajava*. As demais espécies apresentaram variações no nível de ploidia em relação ao número básico de cromossomo ($x=11$) incluindo a ocorrência de poliploidia, disploidia e citotipos. Em algumas espécies, a variação inter-específica de $2C$ apresentou relação direta com o nível de ploidia. Os dados confirmam que as variações no número de cromossomo ploidia são eventos importantes para *Psidium* e podem fornecer subsídios para o entendimento da incompatibilidade da enxertia em porta-enxertos de araçazeiro e goiabeira resistentes ao nematóide *Meloidogyne enterolobii*.

Palavras-chave: Myrtaceae. Fatores genéticos. Nematóide.

ABSTRACT

In *Psidium guajava* the occurrence of the chromosome number $2n = 22$ is almost constant and there are records of polyploidy in several species of *Psidium*. The objective of this work was determining the chromosome number and DNA content of accessions of *Psidium* sp. (araça tree) and accessions of *P. guajava* (guava tree) resistant/susceptible against *M. enterolobii* morphophysiological that maintains some affinity, which could allow their use as rootstocks compatible to commercial varieties of guava. The metaphysical chromosomes were obtained by the smear method 45% acetic acid and staining was done with 2% Giemsa. The determination of DNA amount was done by flow cytometry, utilizing the Mary buffer and as an internal standard of comparison with the species *Pisum sativum*. The intra-species variation of DNA (2C) was of the order of $9x$, with $2n = 22$ observed in only one species of *P. guajava*. The other species presented variations at the ploidy level in relation to the $x = 11$, including the occurrence of polyploidy, cytotype and disploidy. In some species, the inter-species variation of 2C presented a direct relationship with the ploidy level. The data here confirmed that polyploidy is an important event to *Psidium* and can furnish subsidies to the understanding of the incompatibility of the grafting on rootstocks of guava tree and araça tree resistant to the nematode *Meloidogyne enterolobii*.

Keywords: Myrtaceae. Genetic factors. Nematode.

1 INTRODUÇÃO

A família Myrtaceae engloba mais de 100 gêneros e 3.500 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do globo, principalmente nas Américas e na Austrália. O gênero *Psidium*, com aproximadamente 150 espécies, destaca-se com as espécies *Psidium guajava* L. (goiabeira), *Psidium cattleianum* Sabine (araçazeiro-doce, araçazeiro-de-praia ou araçazeiro-de-coroa) e *P. guineensis* Swartz ou *P. araça* Raddali (araçá-verdadeiro ou araçá azedo) (PEREIRA; NACHTIGAL, 2003).

Em razão do aumento de área cultivada com goiabeiras, torna-se comum o aparecimento de novas pragas e doenças (ROSSI; FERRAZ, 2005). No Vale do São Francisco, nos Estados de Pernambuco e Bahia, o cultivo de *P. guajava* é fortemente prejudicado por *M. enterolobii* (MARANHÃO et al., 2001). As perdas devido ao ataque desses fitonematóide foram e tem sido sempre altas, com elevados prejuízos. Considerando que o Brasil é um dos centros de origem da goiabeira, atualmente as pesquisas vêm trabalhando na busca de porta-enxertos resistentes ao fitonematóide e compatíveis com as variedades copa.

Uma espécie pertencente à Myrtaceae, que apresente resistência a *M. enterolobii*, possibilitaria seu uso como porta-enxerto para as variedades comerciais de goiabeira. A existência de grande número de materiais geneticamente diferentes, mas que mantém alguma afinidade morfofisiológica aumenta a chance de haver compatibilidade na enxertia entre diferentes espécies em *Psidium* (HARTMAN et al., 1997). Portanto, é imprescindível a busca por materiais resistentes dentro de Myrtaceae e o estudo da viabilidade do uso desses materiais como porta-enxertos.

Ainda de acordo com os mesmos autores, fatores genéticos e anatômicos podem afetar a compatibilidade do enxerto e porta-enxerto. Por isso, é

recomendado que enxerto e porta-enxerto sejam, no mínimo, pertencentes à mesma família.

Nesse contexto, as informações relativas às características citogenéticas e conteúdo de DNA podem contribuir para o entendimento das relações de incompatibilidade entre porta-enxertos de *Psidium* sp. (araçazeiro) e *P. guajava* (goiabeira), resistentes ao nematóide *M. enterolobii* com genótipos comerciais de goiabeiras. Neste grupo, em especial, estes dados se tornam relevantes considerando que o número cromossômico básico de cromossomo da família é $x=11$, mas ocorre variação no número na maioria dos gêneros e uma alta frequência de poliploidia (COSTA, 2004; COSTA; FORNI-MARTINS, 2006b).

Além das contagens cromossômicas, a determinação do conteúdo de DNA pode complementar informações a respeito das variações no genoma das espécies. Para Myrtaceae poucas espécies têm seu valor $2C$ estimado. Os primeiros registros para o grupo foram feitos para *P. guajava* com relatos de diferentes valores de $2C$ em indivíduos $2n = 22$, com 0,7pg (BENNET; SMITH 1991) 1,3pg (BENNET; LEITH 1997) e 0,5 pg (COSTA et al., 2008).

Portanto, com base no exposto, objetivou-se com este trabalho determinar o número de cromossomo e o conteúdo de DNA de acessos de araçazeiro e goiabeira (resistente/suscetível) frente a *M. enterolobii* que mantém alguma afinidade morfofisiológica e que possibilitassem sua utilização como porta-enxertos compatíveis para as variedades comerciais de goiabeira.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

Nestes estudos foram avaliados dezesseis acessos de araçazeiro e dois de goiabeira (Tabela 1) mantidos em casa de vegetação no Setor de Hidroponia do Departamento de Ciência do Solo da UFLA, localizado no município de Lavras, MG, o clima é do tipo Cwb.

Tabela1 Acessos de *Psidium* utilizados nos experimentos de conteúdo de DNA e contagem cromossômica visando os fatores de incompatibilidade

Acessos	Nome comum	Nome científico	Procedência
1	Goiabeira (Paluma)	<i>Psidium guajava</i>	Carrancas-MG
2	Goiabeira Roxa	<i>Psidium guajava</i>	Carrancas - MG
3	Araçazeiro	<i>Psidium sp.</i>	A-Lu1 Itumirim-MG
4	Araçazeiro	<i>Psidium sp.</i>	A-Lu2 Itumirim-MG
5	Araçazeiro	<i>Psidium sp.</i>	A-Lu3 Itumirim-MG
6	Araçazeiro	<i>Psidium cattleaynum</i>	R.E Ingaí - MG
7	Araçazeiro	<i>Psidium guineense</i>	A-20.1 Recife/PE
8	Araçazeiro	<i>Psidium cattleaynum</i> Sabine	A-Mar Recife/PE
9	Araçazeiro	<i>Psidium cattleaynum</i> Sabine	A-17. 2 Recife/PE
10	Araçazeiro	<i>Psidium cattleaynum</i>	A- Pasto Itumirim-MG
11	Araçazeiro	<i>Psidium sp.</i>	A-30. 3 Recife/PE
12	Araçazeiro	<i>Psidium cattleaynum</i>	A - roxo-u Itumirim-MG
13	Araçazeiro	<i>Psidium australe</i>	A- Carrancas - MG
14	Araçazeiro	<i>Psidium cattleaynum</i>	A-30. 4 Recife/PE
15	Araçazeiro	<i>Psidium cattleaynum</i>	A-Ufla-1 Lavras-MG
16	Araçazeiro	<i>Psidium cattleaynum</i>	A-Ufla-4 Lavras-MG
17	Araçazeiro	<i>Psidium cattleaynum</i>	A-Ufla-5 Lavras-MG
18	Araçazeiro	<i>Psidium cattleaynum</i>	A-20.3 Recife/PE

2.2 Preparação das suspensões nucleares para a citometria de fluxo

Para cada acesso, três amostras de folhas foram avaliadas, com o objetivo de estimar a quantidade de DNA. Para a determinação da quantidade de DNA, aproximadamente 20-30 mg de tecido foliar jovem, juntamente com a mesma quantidade de tecido foliar jovem de ervilha *Pisum sativum* (padrão interno de referência), foram triturados em placa de Petri contendo 1mL de tampão Marry gelado para a obtenção de suspensão nuclear (DOLEZEL, 1997).

À suspensão nuclear foram adicionados 25µL de iodeto de propídio e 50 µL de RNase, sendo as amostras analisadas, após 5 minutos de incubação, em citômetro de fluxo FacsCalibur™ 4 Cores da BD (Becton Dickinson). Os histogramas foram gerados pelo software Cell Quest e analisados com o software WinMDI 2.9. O conteúdo de DNA nuclear (pg) das amostras foi estimado por comparação com a posição em relação ao pico G1 do padrão interno de referência.

O tamanho do genoma nuclear de cada amostra foi estimado de acordo com:

$$\text{DNA 2C (pg)} = \frac{\text{Canal do pico G1 da amostra} \times \text{Conteúdo de DNA padrão (9,09pg)}}{\text{Canal do pico G1 do padrão}}$$

A homogeneidade e normalidade da distribuição amostral foram analisadas pelos testes de Bartlett e Shapiro-Wilks, respectivamente. Após a verificação de que os dados não seguiam uma distribuição normal e não possuíam a mesma variância, realizou-se a análise de variância não-paramétrica, usando o teste de Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade. A análise estatística da

variável conteúdo de DNA foi realizada utilizando o software R. Development core team (2008).

2.3 Contagens cromossômicas

Para obtenção das metáfases mitóticas dos porta-enxertos de araçazeiro e goiabeira. Utilizou-se de pontas de raízes pré-tratadas com 8-hidroxiquinoleína (8-HQ) 0,002 M, por cerca de 24 horas, a 4°C (ÉDER-SILVA et al., 2007). Posteriormente, as raízes foram fixadas em Carnoy 3:1 (etanol absoluto/ácido acético glacial v/v), por um período de 24 horas, à temperatura ambiente e em seguida estocada em freezer a -20°C para serem analisadas posteriormente. Para o preparo das lâminas, as raízes foram hidrolisadas em ácido clorídrico 5N, por 35 minutos, em temperatura ambiente. As lâminas foram preparadas de acordo com a técnica de esmagamento e corodas com Giemsa 2% (GUERRA; SOUZA, 2002). O número cromossômico foi obtido pela contagem de, no mínimo, 10 metáfases de cada material analisado.

As imagens dos cromossomos foram capturadas em microscópio de campo claro (Leica DMLS), equipado com microcâmera (Nikon Digital Sight DS-Fi1). Para a montagem das pranchas, as melhores células foram digitalizadas no programa Corel Photo Paint, utilizando-se apenas os comandos de brilho e contraste.

3 RESULTADO E DISCUSSÃO

A determinação do conteúdo de DNA é inédita para os acessos de araçazeiro e de goiabeira (Tabela 2). A amplitude da variação encontrada foi de 0,99pg em *P. guajava* até 5,48pg em *P. cattleaynum* (Tabela 2). Considerando esta característica, não foram observadas diferenças significativas entre os acessos 1 e 2 (*P. guajava*), entre os acessos 6 e 7 (*P. cattleaynum* e *P. guineense*) e também entre os dois acessos de *P. cattleaynum* (9 e 10). O acesso 18 de *P. cattleaynum* apresentou o maior conteúdo de DNA entre os acessos avaliados.

Tabela 2 Conteúdo médio de DNA nuclear (pg) e número cromossômico em espécies de *Psidium*

Acessos	Nome científico	Conteúdo de DNA nuclear (pg)	N° de cromossomos		CV(%)
			cr	2n	
1	<i>P. guajava</i>	0,99 (2,33) ¹ n	18		1,00
2	<i>P. guajava</i>	1,02 (4,67) n	22		1,46
3	<i>Psidium sp</i>	1,09 (8,00) m	30		1,06
4	<i>Psidium sp</i>	1,86 (11,00) l	30		1,34
5	<i>Psidium sp</i>	1,95 (14,00) k	36		0,69
6	<i>P. cattleaynum</i>	1,99 (17,83) j	44		0,96
7	<i>P. guineense</i>	2,02 (19,17) j	44		1,13
8	<i>P. cattleaynum</i>	2,20 (23,00) i	46		0,68
9	<i>P. cattleaynum</i>	2,54 (26,83) h	46		0,90
10	<i>P. cattleaynum</i>	2,70 (28,17) h	46		0,93
11	<i>Psidium sp</i>	2,74 (32,00) g	48		0,82
12	<i>P. cattleaynum</i>	2,88 (35,00) f	55		0,64
13	<i>P. australe</i>	2,97 (39,17) e	55		0,99
14	<i>P. cattleaynum</i>	3,00 (41,50) de	58		0,67
15	<i>P. cattleaynum</i>	3,01 (42,33) d	66		0,57
16	<i>P. cattleaynum</i>	3,11 (47,00) c	66		0,47
17	<i>P. cattleaynum</i>	5,32 (50,00) b	66		0,55
18	<i>P. cattleaynum</i>	5,47 (53,00) a	82		0,50

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal Wallis ao nível de 5% de probabilidade. ¹ Ranking: Classificação obtida conforme metodologia de Kruskal-Wallis.

Nos acessos de *P. guajava*, a determinação da quantidade de DNA e número cromossômico, foram $2C = 0,99$ e $1,02$, com $2n = 18$ e 22 , respectivamente (Figura 1A e B).

Para a maioria dos acessos observa-se relação entre o número cromossômico, o nível de ploidia e o conteúdo de DNA. Os menores valores de $2C$ foram encontrados nas espécies diplóides ($2n = 18$ e 22) e aumentaram conforme o nível de ploidia (Figura 1, 2 e 3).

Dentre as espécies tetraplóides ($2n = 44$), a variação foi $1,99$ pg a $2,21$ pg nos acessos *P. guineense* e *P. cattleyanum*, respectivamente (Figura 1F e 2A), sendo aproximadamente o dobro do acesso *P. guajava* ($2n = 22$) (Figura 1A e F e 2 A). Os valores obtidos para o conteúdo de DNA divergem do número apresentados por Costa et al. (2008), que observaram *P. guajava* (goiaba vermelha), *P. guajava* (goiaba branca), *P. cattleyanum* (fruto vermelho), *P. cattleyanum* (fruto amarelo) valores de $2C = 0,55$ com $2n=22$, $2C = 0,50$ com $2n = 22$, $2C = 2,91$ com $2n = 66$, e $2C = 1,05$ com $2n=44$, respectivamente.

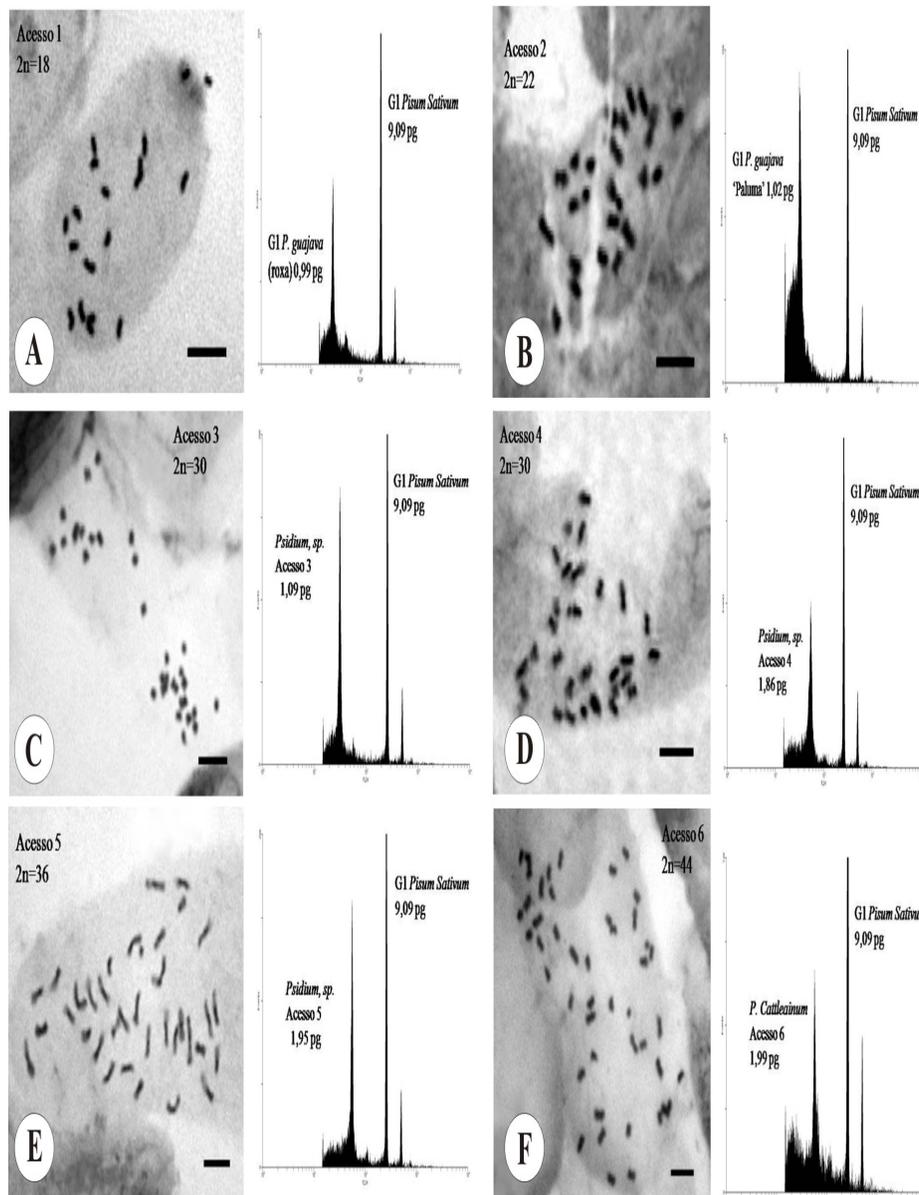


Figura 1 Metáfases mitóticas e histogramas do conteúdo de DNA nuclear dos acessos de goiabeira (*Psidium guajava*) e araçazeiro (*Psidium* sp.) Barra: 5 μ m

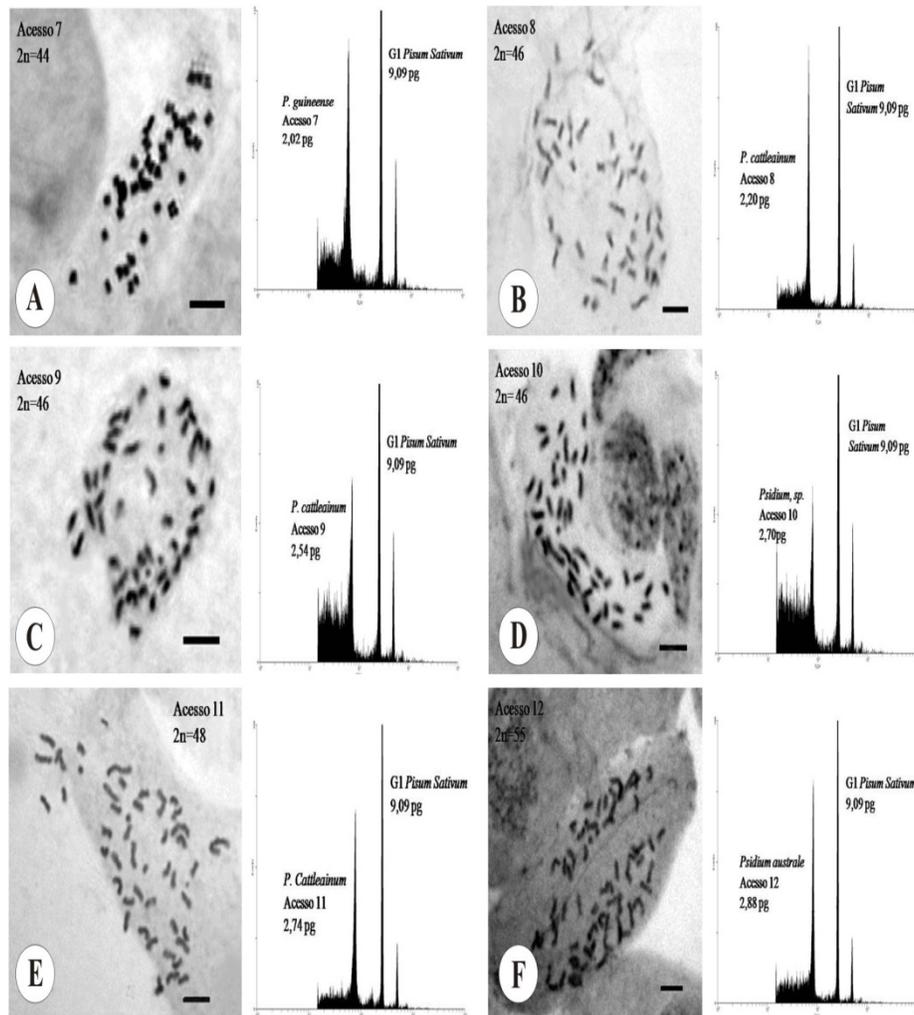


Figura 2 Metáfases mitóticas e histogramas do conteúdo de DNA nuclear dos acessos de goiabeira (*Psidium guajava*) e araçazeiro (*Psidium* sp.) Barra: 5μm

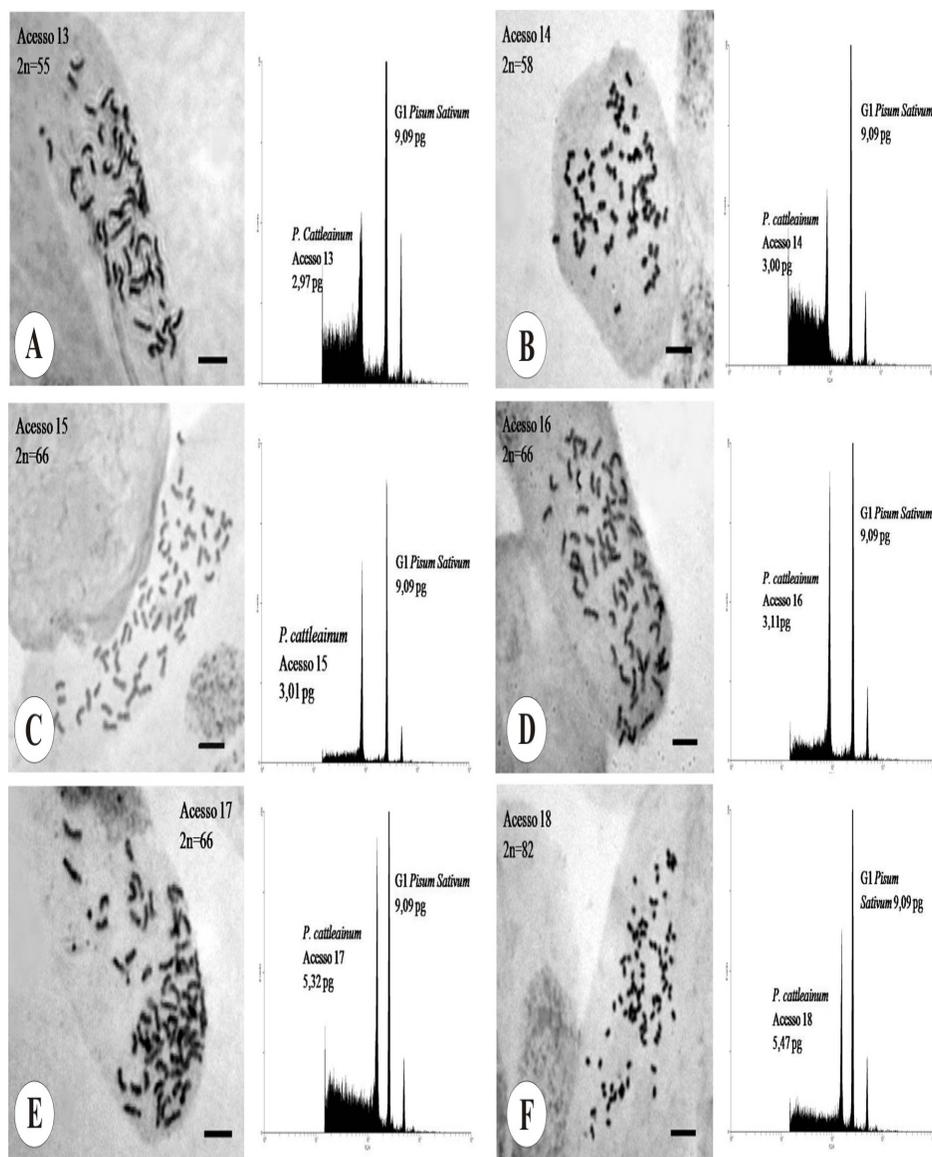


Figura 3 Metáfases mitóticas e histogramas do conteúdo de DNA nuclear dos acessos de goiabeira (*Psidium guajava*) e araçazeiro (*Psidium* sp.) Barra: 5 μ m

Nas metáfases analisadas neste estudo foram observados $2n = 22$ cromossomos para *P. guajava* 'Paluma' e $2n = 18$ para *P. guajava* (goiabeira

roxa). Os acessos de *P. cattleyanum* apresentaram variações nos números cromossômicos de $2n= 44, 46, 48, 55, 58, 82$. Outras quatro espécies de *Psidium* sp. (acessos 3, 4, 5 e 11) apresentaram variações de $2n=30, 36$ e 48 (Tabela 2, Figuras 1C, D, E e 2 E). Em relação às duas populações de *P.cattleyanum* (acesso 17 e 18) não houve uma correlação direta entre o número cromossômico ($2n = 66$ e 82) e o valor $2C$, isso pode ser explicado pelo fato do acesso apresentar cromossomos de tamanho menor comparado ao acesso 17 (Figura 3E e F).

Para outros três acessos de *P. cattleyanum* (acessos 15, 16 e 17), *P. guineense* (acesso 7) e *P. australe* (acesso 13) foram observados $2n=66, 2n=44$ e $2n=55$, respectivamente. Essas variações caracterizam a ocorrência de citótipos entre os acessos avaliados.

Costa; Forni-Martins (2006a); Eder-Silva et al. (2007) já haviam relatado a ocorrência de citótipos em *Psidium*, com variações de $2n= 22, 33, 44, 55, 66, 77$ e 88 cromossomos.

A diferenciação de raças cromossômicas ou citótipos pode ser entendida como uma etapa intermediária e importante, pois pode levar ao isolamento genético, fornecendo uma barreira ao fluxo gênico (STACE, 1991) atuando na diferenciação e favorecendo o processo de especiação (BRIGGS; WALTERS 1997). A poliploidia é considerada um dos mecanismos adaptativos e evolutivos importantes em plantas, favorecendo uma amplitude ecológica e distribuição geográfica mais amplas que os parentais diplóides (BRIGGS; WALTERS 1997).

O número de cromossomos observado na variedade copa Paluma de *P. guajava* ($2n=22$) e para os sete acessos de *P. cattleyanum* $2n= 44, 55$ e 66 (Figura 1B e F; Figura 2A e F; Figura 3 A e C) corrobora com os resultados obtidos por Costa et al. (2008); Wilson et al. (2005).

Costa et al. (2008) já haviam relatado esse mesmo número cromossômico para o porta-enxerto *P. australe cambess*, cuja procedência

também foi a região de Carrancas-MG, confirmando o número cromossômico para este acesso (Figura 2F).

Para *P. cattleaynum* (araçá), Éder-Silva et al. (2007) em contagem cromossômica constataram $2n=44$, confirmaram os resultados obtidos no presente estudos para esta espécie. Vijayakumar; Subramanian (1985) e Costa et al. (2008), em estudos citogenéticos realizados em espécies da família Myrtaceae, relataram $2n = 22$ cromossomos para *P. guajava*. Esta contagem não coincidem com os resultados obtidos para goiabeira-roxa nativa (*P. guajava*), uma vez que o acesso analisado apresentou $2n=18$. Para os porta-enxertos de araçazeiro *P. cattleaynum* e *P. guineense*, os resultados obtidos foram semelhantes aos relatados na literatura para o gênero. Costa (2009) observou que o número cromossômico $2n = 44, 55$ e 66 parece ser constante nas espécies de *P. cattleaynum*, uma vez que nos estudos realizados com a espécie foram obtidos resultados similares.

Além das séries poliplóides, algumas contagens no acesso de goiabeira roxa (*P. guajava*) com $2n=18$, *P.cattleyanum* com $2n= 46, 48, 58$ e 82 e *Psidium* sp. $2n=30, 36, 46$ (Figura 1,2 e 3), divergem do número básico $x=11$, provavelmente decorrente de alteração por disploidia em relação a $2n = 22$. No presente estudo foram registrado para gênero *Psidium*, ocorrência de poliploidia, disploidia e citotipos.

Possivelmente uma das causas da incompatibilidade dos porta-enxertos de *P. cattleyanum* resistente ao fitonema *M. enterolobii* sob a copa 'Paluma' obtidos por Almeida, (2008) e Carneiro et al. 2007, podem estar associados aos fatores genéticos e anatômicos. No presente trabalho verificou-se que os acessos *P. cattleaynum* apresentaram número de cromossomos que variaram de $2n=44$ a $2n=82$, por sua vez, em *P. guajava*, variedade copa Paluma, $2n=22$ (Figura 1, 2 e 3), evidenciando uma diferença em número de cromossomo e conteúdo de DNA entre os porta-enxertos de *P. cattleyanum* e o

enxerto 'Paluma'. Esse pode ser um fator que dificulta a fusão dos tecidos e o intercâmbio de células, pois cada tecido continua a produzir por mitose, mantendo o seu número cromossomo, cujo tamanho do genoma e dosagens gênicas são diferentes. Desta forma recomenda-se usar plantas que, no mínimo, tenham número e conteúdo de DNA semelhantes. Enxertos feitos em plantas com maior número de cromossomo e conteúdo de DNA dificilmente são executados com sucesso.

Dessa forma, os caracteres quanto ao mecanismo de incompatibilidade estão em conformidade com os citados por Fachinello et al. (2005).

No Brasil, segundo Martins; Hojo (2009), as principais cultivares de goiabeira para o consumo "in natura", 'Paluma', 'Pedro Sato', 'Rica' e 'Sassaoka', apresentam ($2n=22$) e provém de mudas de goiabeira propagadas comercialmente por enxertia, considerados que os porta-enxertos utilizados de *Psidium guajava* apresentam ($2n=22$) há uma favorável união com as variedades copa. Os resultados das contagens cromossômicas realizadas neste estudo confirmaram $2n=22$ para 'Paluma'.

As técnicas de citometria de fluxo e contagem de cromossomos foram aplicadas pela primeira vez como forma de avaliar as possíveis causas da incompatibilidade na enxertia entre acessos de goiabeira e araçazeiros nativos. Estas técnicas mostraram-se úteis para o uso em seleções prévias de espécies de *Psidium* ssp, usadas como enxerto e porta-enxerto.

4 CONCLUSÕES

O número de cromossomos dos acessos de *Psidium* ssp, variaram $2n=18$ (*P. guajava*) a $2n=82$ (*P. cattleyanum*).

A variação interespecífica de conteúdo de DNA nuclear apresentou relação direta com o nível de ploidia na maioria dos acessos estudados.

O número de cromossomos em plantas de *Psidium guajava* que apresentam compatibilidade entre si é de $2n=22$ e confirmam os resultados obtidos em cultivares comerciais desta espécie.

REFERENCIAS

ALMEIDA, E.J.; SOARES, P.L.M.; SANTOS, J.M.; MARTINS, A.B.G. Resistência de goiabeiras e araçazeiros a *Meloidogyne mayaguensis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 4, p. 421- 423, 2009.

ALMEIDA, E.J. **O nematóide de galha da goiabeira (*Meloidogyne mayaguensis* Ramah & Hirschmann, 1988): identificação, hospedeiros e ação patogênica sobre goiabeiras.** 2008. 116p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Unesp.

BENNETT, M.D.; LEITCH, I.J. Nuclear DNA amounts in Angiosperms – 583 new estimates. **Annals of Botany**, v.80, p. 169-196, 1997.

BRIGGS, D.; WALTERS, S.M. **‘Plant variation and evolution.’** (University Press: Cambridge) (1997), 129p.

CARNEIRO, R. M. D. G.; CIROTTO, P. A.; QUINTANILHA, A. P.; SILVA, D. B.; CARNEIRO, R. G. Resistance to *Meloidogyne mayaguensis* in *Psidium* spp. accessions and their grafting compatibility with *P. guajava* cv. Paluma. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 4, p. 281-284, 2007.

COSTA, I.R. **Estudos evolutivos em Myrtaceae: aspectos citotaxonômicos e filogenéticos em Myrteae, enfatizando *Psidium* e gêneros relacionados.** 2009.244p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas-Unicamp, 2009.

COSTA, I.R.; DORNELAS M.C.; FORNI-MARTINS, E.R. Evolution of nuclear DNA amounts in Neotropical Myrtaceae (fleshy-fruited Myrteae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 276, p.209-217, 2008.

COSTA, I.R.; FORNI-MARTINS, E.R. Chromosome studies in Brazilian species of *Campomanesia* Ruiz et Pavon and *Psidium* L. (Myrtaceae Juss.). **Caryologia**, v. 59, p. 7-13, 2006b.

COSTA, I.R.; FORNI-MARTINS, E.R. Chromosome studies in species of *Gomidesia*, *Marlierea*, *Myrceugenia* and *Myrcia* (Myrtaceae, subtribe Myrciinae). **Kew Bulletin** v.62, p.113-118, 2006a.

COSTA, I.R. 2004. Estudos cromossômicos em espécies de Myrtaceae Juss. no sudeste do Brasil. 2004, Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP.

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

ÉDER-SILVA, E.; FELIX, L. P.; BRUNO, R. L. A. Citogenética de algumas espécies frutíferas nativas do nordeste do Brasil. **Revista Brasileira Fruticultura**. Jaboticabal - SP, v. 29, n. 1, p. 110-114, 2007.

FACHINELLO, J. C.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E. **Fruticultura fundamentos e práticas**. Pelotas: UFPel, 2005. 176 p.

GUERRA, M. O uso do Giemsa na citogenética vegetal - comparação entre coloração simples e o bandeamento. **Ciência e Cultura**. v.35, p.190-193. 1983.

HARTMAN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR., F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 6. ed. New Jersey: Prentice Hall, 1997. 770p.

MARANHÃO, S.; MOURA, R.V.L.; PEDROSA, E.M.R. Reação de indivíduos segregantes de araçazeiro a *Meloidogyne incognita* Raça 1, *M. javanica* e *M. mayaguensis*. **Nematologia Brasileira**, v.27, n.2, p. 173-178, 2001.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

MARTINS, A.B.G.; HOJO, R.H. **A Cultura da goiabeira á comercialização** – Jaboticabal: FCAV, Capes, CNPQ, FAPESP, Fundunesp, SBF, 2009, 284p.;il, vol.2.

PEREIRA, F. M.; NACHTIGAL, J. C. Melhoria da goiabeira. In: ROZANE, D. E.; COUTO, F. A. d'A. **Cultura da goiabeira: tecnologia e Mercado**. Vicososa: UFV, 2003. p. 53-78.

R. DEVELOPMENT CORE TEAM (2008). **R: A language and environment for statistical computing, reference index version 2.8.0**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

ROSSI, C. E.; FERRAZ, L. C. C. B. Fitonematoides da superfamília Criconematoidea e Dorylaimoidea associados a fruteiras de clima subtropical e temperado nos estados de São Paulo e Minas Gerais. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 183-192, 2005.

VIJAYAKUMAR, N.; SUBRAMANIAN D. Cytotaxonomical studies in South Indian Myrtaceae. **Cytologia**, v.50, p. 513-520, 1985.

WILSON, P.G.; O'BRIEN, M.M.; HESLEWOOD, M.M.; QUINN, C.J. Relationships within Myrtaceae sensu lato based on a matk phylogeny. **Plant Systematics and Evolution**, v. 251, p.3-19, 2005.

CAPÍTULO 4

VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE ARAÇAZEIRO E GOIABEIRA SUSCETÍVEIS E RESISTENTES A *Meloidogyne enterolobii*

RESUMO

A goiabeira representa uma importante atividade frutícola no Brasil, com mercado cada vez maior. Porém, desde 1989 vêm sendo relatados severos danos à cultura causados pelo nematóide *Meloidogyne enterolobii*. Uma das alternativas para solucionar este problema é a utilização de porta-enxertos com resistência a este patógeno. Este trabalho teve por objetivo a caracterização molecular, com marcadores RAPD, de acessos de *Psidium* testados quanto à resistência a *M. enterolobii* e quanto à compatibilidade como porta-enxertos para as goiabeiras comerciais. Foram testados 30 *primers*, dos quais 19 forneceram resultados nítidos para a amplificação. Foram gerados 163 fragmentos, dos quais 86 polimórficos (63,0%). Em média, cada iniciador produziu 8,6 fragmentos, dos quais 5,4 apresentaram polimorfismo. A análise de agrupamento foi realizada por espécie, os acessos de *Psidium* sp apresentaram a formação de dois grupos, um formado pelo acesso A-UFLA e o segundo subdividido em quatro subgrupos, sendo os acessos com maiores distâncias genéticas A-Ufla, resistente a *M. enterolobii*, A-Ufla4 e A-Ufla5, ambos suscetíveis ao nematóide em questão, todos coletados em Lavras-MG, com similaridade aproximada de 66%. Na análise de agrupamento dos treze acessos de *P.cattleaynum* foi possível constatar a formação de dois grandes grupos. Um formado por três acessos suscetíveis a *M. enterolobii* (A-20.2, A-10.1 e A-9.2) e outro grupo formado por dez acessos. Os acessos se agruparam conforme a região de origem em seis grupos, sendo que o mais divergente é originário da região de Lavras – MG, com 0.65 de similaridade, onde as distâncias genéticas variaram de 0,88 a 0,65. Dos treze acessos de *P. guineense*, todos suscetíveis a *M. enterolobii*, sendo 12 oriundos de Recife e um de Pelotas (A-14.1) e agruparam-se em dois grupos com similaridades variando de 0,59 a 0,83. Quanto ao estudo de diversidade entre os acessos de goiabeiras, a maior distância genética foi detectada entre o acesso G-Ufla com 0,71 Lavras-MG.

Palavras-chave: Resistência de plantas a doenças. Nematóide de galha. Marcadores genéticos.

ABSTRACT

Guava culture stands for an important fruit-growing business in Brazil, with a greater and greater market. But, since 1989 severe damages to the culture caused by the nematode *Meloidogyne enterolobii*, have been reported. One the alternatives to solve this problem is the use of rootstocks with resistance to this nematode. This work aimed at the molecular characterization, with RAPD markers, of *Psidium* accessions susceptible to be utilized as rootstocks for the commercial guava trees. 30 primers were tested, from which 19 supplied distinct results for the amplification. The primers generated 163 polymorphic marks, resulting into a mean of 8,6 polymorphic bands per primer. The cluster analysis was performed per species, the accessions of *Psidium* sp presented the formation of two groups, one formed by A-UFLA accession and the other subdivided into four subgroups, that is, the accession with increased genetic distances, A-Ufla, resistant to *M. enterolobii*, A-Ufla4 and A-Ufla5, both susceptible to the nematode in issue, all collected in Lavras-MG with a similarity of about 66%. In the cluster analysis of the thirteen accessions of *P.cattleaynum*, it was possible to found the formation of two great groups. One made up by three accessions susceptible to *M. enterolobii* (A-20.2, A-10.1 and A-9.2) and the other group formed by ten accessions. The accessions grouped together according to the region of origin in six groups, the most divergent being that native to region of Lavras – MG, with 0.65 of similarity, where the genetic distances ranged from 0.88 to 0.65. The thirteen accessions of *P. guineense*, all susceptible to *M. enterolobii*, namely, 12 coming from Recife and one proceeding from Pelotas (A-14.1), grouped themselves together and two groups with similarity ranging from 0.59 to 0.83. As to the diversity study among the guava tree accessions, the greatest genetic distances were detected between the accessions G.P.S and G-Ufla with 0.71 Lavras-MG.

Keywords: Plant resistance to diseases. Root-not nematode. Genetic markers.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui grandes áreas com condições edafoclimáticas favoráveis à produção comercial de goiaba, o que é relevante, não apenas pelo valor nutritivo da fruta, mas também pela perspectiva que representa no incremento da produção agrícola, na ampliação da atividade industrial e no potencial de exportação (ROZANE; COUTO, 2003). Em 1988, *Meloidogyne enterolobii* Rammah & Hirschmann, foi assinalado pela primeira vez no Brasil em Petrolina (PE), Curaçá e Maniçoba (BA) causando danos severos em plantios comerciais de goiabeira (*P. guajava* L.) (CARNEIRO et al., 2001).

Esse nematóide de galha é altamente agressivo e representa séria ameaça à cultura da goiaba e a outras culturas do agronegócio nacional (SOUZA et al., 2006). Torres et al. (2004) constataram que, cerca de 70 % das goiabeiras da região do Vale do São Francisco (Brasil) já morreram devido ao ataque do nematóide. Em casos mais graves, pomares adultos têm sido erradicados aos quatro anos (GOMES et al., 2008). No manejo integrado de nematóide, o uso de cultivares resistente é uma alternativa vantajosa e econômica, comparado ao emprego de nematicidas. Espécies pertencentes à família Myrtaceae com resistência a *M. enterolobii*, possibilitariam seu uso como porta-enxerto para as variedades comerciais de goiabeira.

A existência de grande número de materiais geneticamente diferentes, mas que mantêm alguma afinidade morfofisiológica aumenta a chance de haver compatibilidade na enxertia entre diferentes espécies de *Psidium* (HARTMAN et al., 1997). Portanto, é imprescindível a busca por materiais resistentes dentro da família em estudo e o acesso da viabilidade genética do uso desses materiais como porta-enxertos.

Atualmente, os programas de melhoramento genético têm utilizado a associação de técnicas clássicas a ferramentas biotecnológicas, com o objetivo

de aumentar a eficiência de seleção e caracterização de germoplasmas e a maximização dos ganhos genéticos, permitindo aos melhoristas o acesso e a seleção da variabilidade no DNA. Uma das principais vantagens da utilização destes é propiciar a redução do tempo para identificação da diversidade genética entre os indivíduos trabalhados (XAVIER et al., 2005). Um dos marcadores moleculares utilizados é o RAPD (amplificação arbitrária polimórfica de DNA) por ser uma técnica rápida e de custo relativamente baixo, porém com potencial informativo (AREIAS et al., 2006). Essa técnica pode ser utilizada para análise de diversidade genética e caracterização de germoplasma, como Padilha-Ramírez et al. (2002) que empregaram os marcadores RAPD para diferenciação molecular de acessos do banco de germoplasma de *P. guajava* L. do México, e constataram baixa variabilidade genotípica entre os acessos.

Este trabalho teve por objetivo a caracterização molecular de acessos de goiabeira e araçazeiro avaliados em trabalhos prévios de reação a *M. enterolobii*, passíveis de serem utilizados como porta-enxertos para cultivares comerciais de goiabeira.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

O material foi coletado a partir de acessos de araçazeiro e goiabeira, propagados por sementes, mantidos em casa de vegetação no Setor de Hidroponia do Departamento de Ciência do Solo, localizado no município de Lavras, MG, o clima é do tipo Cwb. No presente estudo, foram avaliados cinco acessos de goiabeira e 35 acessos de araçazeiro, já submetidos à reação a *M. enterolobii* e classificados como suscetíveis e resistentes (Tabela 1).

Tabela1 Acessos de goiabeira e araçazeiro resistente e suscetível ao *Meloidogyne enterolobii* utilizados no experimento de caracterização molecular visando à diversidade genética

Acesso	Procedência	Nome comum	Nome científico	Reação
A-Roxo-u	Carrancas-MG	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	R
A-Ufla5	Lavras-MG	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	S
A-Ufla1	Lavras-MG	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	S
A-Ufla4	Lavras-MG	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	S
A- lu1	Itumirim-MG	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	R
A- lu2	Itumirim-MG	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	R
A- lu3	Itumirim-MG	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	R
G-Amar	Patos de Minas-MG	Goiabeira-amarela	<i>P. guajava</i>	S
A-Roxo-c	Carrancas-MG	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	R
A-16.2	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. guineense</i>	S
A-14.1	Pelotas-RS	Araçazeiro	<i>P. guineense</i>	S
A-Ufla	Lavras-MG	Araçazeiro	<i>Psidium</i> sp.	R
A-14.3	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. guineense</i>	S
A-Boi	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. cattleaynum</i>	S
A-18.4	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. guineense</i>	S
A-10.2	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. guineense</i>	S
A-Amar	Carrancas-MG	Araçazeiro	<i>P. cattleaynum</i>	R
A-30	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. cattleaynum</i>	R
A.S.V	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. cattleaynum</i>	R

“Tabela 1, conclusão”

A-26.2	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. guineense</i>	S
A-19.2	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. guineense</i>	S
A-25.4	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. guineense</i>	S
A-23	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. cattleaynum</i>	R
A-30.4	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. cattleaynum</i>	R
G-Ufla	Lavras-MG	Goiabeira-Ufla	<i>P. guajava</i>	S
G.P.S	Carrancas-MG	Goiabeira Pedro-Sato	<i>P. guajava</i>	S
G.C.F	Carrancas-MG	Goiabeira-Carrancas	<i>P. guajava</i>	S
A-R.S	Pelotas-RS	Araçazeiro	<i>P. cattleaynum</i>	R
A-19.4	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. guineense</i>	S
A-23.1	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. guineense</i>	S
A-20.1	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. guineense</i>	S
A-20.4	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. guineense</i>	S
A-17.2	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. guineense</i>	S
A-Pasto	Itumirim-MG	Araçazeiro	<i>P. cattleaynum</i>	S
G.Roxa	Carrancas-MG	Goiabeira-roxa	<i>P. guajava</i>	S
A-30.3	Itumirim-MG	Araçazeiro	<i>P. cattleaynum</i>	R
A-R.E	Ingai-MG	Araçazeiro	<i>P. cattleaynum</i>	M.R
A-20.2	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. cattleaynum</i>	S
A-10.1	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. cattleaynum</i>	S
A-9.2	Lavras-MG	Araçazeiro	<i>P. cattleaynum</i>	S

2.2 Extração e amplificação de DNA

O preparo das amostras foi realizado no Laboratório de Eletroforese do setor de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras. Cerca de 50 mg de folhas jovens, sadias, coletadas dos cinco acessos de goiabeiras e 35 de araçazeiro foram maceradas em N líquido até a obtenção de pó fino, em seguida transferido para tubos eppendorf de 2,0 mL.

O DNA das amostras foi extraído conforme o protocolo Doyle; Doyle (1990), para serem genotipadas com marcadores RAPD. Foram testados 30 primers e selecionados 19 (Tabela 2).

Tabela 2 Produtos resultantes das reações de amplificação de DNA de acessos de *Psidium* com base nos marcadores RAPD

Nome do <i>Primer</i>	Sequência 3'- 5'	Número de bandas		
		Total	Bandas polimórficas	% de bandas polimórficas
Operon				
OPAH 03	GGT TAC TGC C	10	04	40
OPAH 04	CTC CCC AGA C	14	07	50
OPAH 11	TGA GTC CGCA	14	10	71,0
OPAH 12	CTACAGCGAG	12	05	42,0
OPA 10	GTG ATC GCA G	11	08	72,0
OPA12	TCG GCG ATA G	9	05	55,5
UBC 132	AGG GAT CTC C	9	05	55,0
UBC135	AAG CTG CGA G	9	06	66,6
UBC153	GAG TCA CGA G	8	06	62,5
UBC155	CTG GCG GCT G	5	00	00
BR65	TCG GCG ATAG	5	02	40,0
PC11	CAG CAC CCA C	10	04	40,0
PRIMER 1	CCT GGG TGG A	10	08	80,0
PRIMER 2	CCT GGG TGG A	6	00	00
PRIMER 3	CCT GGG TCC A	9	06	66,0
PRIMER 5	GAA ACA GCG G	5	00	00
PRIMER 6	GCC CGG TTT A	7	04	57,0
PRIMER 7	GGA GCC CAC	5	03	60,0
PRIMER 15	CTA CCC GTG C	5	03	60,0
Totais		163	86	
Médias		8,6	5,4	63,0

As reações de amplificação dos fragmentos de DNA (PCR) foram feitas em termociclador Perkin Elmer Modelo Gene Amp PCR System 2400, num meio com volume final de 10 μ L, contendo: 1,59 μ l de água miliq, 1,3 μ l de tampão (1x), 0,65 μ l MgCl₂ (2,5 mM), 0,26 μ l de dNTPmix (0,2mM), 5,0 μ l de primer (25 ng), 0,2 μ l da Taq DNA polimerase (1U) e 1 μ l de DNA (20ng). Foi seguida a metodologia de Williams et al. (1993).

O programa de amplificação consistiu 95°C de temperatura inicial por 2 min, 45 ciclos de amplificação à 94 °C por 45 seg; 42 °C por 1 min; 72 °C por 2 min (FILHO, et al., 2010). Após as reações, os produtos de amplificação do DNA foram separados em gel de agarose 1,5%, contendo Syber Goold e submetidos à eletroforese em tampão TBE 1X. Após a amplificação, os fragmentos foram visualizados por meio de eletroforese em gel para efeito da comparação de tamanho dos fragmentos amplificados foi utilizado como padrão o DNA Ladder 100 bp adquirido da INVITROGEN Life Technologies e visualizados sob luz UV.

Os produtos da amplificação visualizados no gel, produzidos por cada *primer*, foram utilizados na elaboração de uma matriz de similaridade genética, por meio do registro da presença (1) e da ausência (0) de bandas no perfil eletroforético de cada genótipo, e serviu para a diferenciação dos acessos. Com auxílio do programa NTSYS, versão 2.1 (ROHLF, 2000), os coeficientes de similaridade de Coincidência Simples entre os acessos foram usadas para a construção do dendrograma, pelo método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Averages), adotando a rotina SAHN (Sequential Agglomerative, Hierarchical and Nested Clustering).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os primers estudados, UBC-155, PRIMER 2, PRIMER 5 geraram produtos monomórficos, e, os fragmentos produzidos por OPAH 03, OPAH 04, OPAH 11, OPAH 12, OPA 10, OPA 12, UBC 132, UBC135, UBC153, BR65, PC11, PRIMER 1, PRIMER 3, PRIMER 6, PRIMER 7 e PRIMER 15, apresentaram polimorfismo (Tabela 2). Foram gerados 163 fragmentos, dos quais 86 polimórficos (63,0%). Em média, cada iniciador produziu 8,6 fragmentos, dos quais 5,4 apresentaram polimorfismo. Em estudo de diversidade genética em goiabeira realizado por Padilla-Ramírez et al. (2002), no México, foi observado pelos autores um nível de 60% de polimorfismo, resultado este inferior ao encontrado neste trabalho.

A análise de agrupamento foi realizada por espécie, os acessos de *Psidium*, sp apresentaram a formação de dois grupos, um formado pelo acesso A-Ufla e o segundo subdividido em quatro subgrupos (Figura 1).

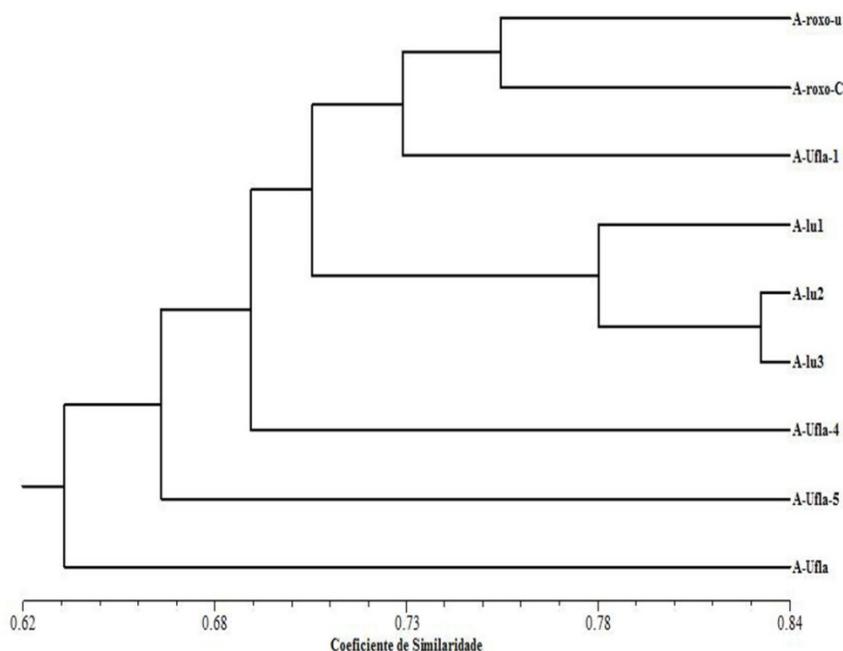


Figura 1 Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir das medidas de similaridade genética entre nove acessos de *Psidium*, sp, caracterizado por marcadores RAPD, usando o Simple matching Coefficient

O primeiro subgrupo foi formado pelos acessos A-roxo-u, A-roxo-c e A-Ufla1, sendo os dois primeiros oriundos de Carrancas-MG e resistentes a *M. enterolobii* e o terceiro de Lavras-MG e os acessos A-lu1, A-lu2 e A-lu3, todos coletados em Itumirim-MG e resistentes a *M. enterolobii*, formaram o segundo subgrupo do dendrograma, mostrando grande similaridade genética, sendo que os acessos A-lu2 e A-lu3 com similaridade maior entre si. Em contrapartida, os materiais que apresentaram as maiores distâncias genéticas foram os acessos A-Ufla, resistente a *M. enterolobii*, A-Ufla4 (subgrupo três) e A-Ufla5(subgrupo quatro), ambos suscetíveis ao nematóide em questão, todos coletados em Lavras-MG com uma similaridade aproximada de 66%. Desta forma, evidencia-se que estes acessos são genótipos diferenciados e apresentaram respostas também

diferenciadas em relação à resistência ao nematóide. Segundo Barros et al. (2005), grupos formados por apenas um indivíduo apontam na direção de que tais indivíduos sejam mais divergentes em relação aos demais, como é observado neste trabalho (A-Ufla).

Na análise de agrupamento dos treze acessos de *P.cattleaynum* (Figura 2) foi possível constatar a formação de dois grandes grupos. Um formado por três acessos suscetíveis a *M. enterolobii* (A-20.2, A-10.1 e A-9.2) e outro grupo formado por dez acessos, onde A-Pasto (susceptível), A-30.3(resistente) e A.R.E (moderadamente resistente), sendo os dois primeiros coletados em Itumirim-MG e o terceiro em Ingai-MG, formaram o segundo grupo do dendrograma, mostrando elevada similaridade genética, sendo A-Pasto e A-30.3 com 0,87 mostraram similaridade maior entre si do que em relação ao A.R.E com 0,82. Desta forma, evidencia-se que estes materiais, apesar da formação de subgrupos, apresentam uma distância genética menor, isto pode ter ocorrido devido à região de origem.

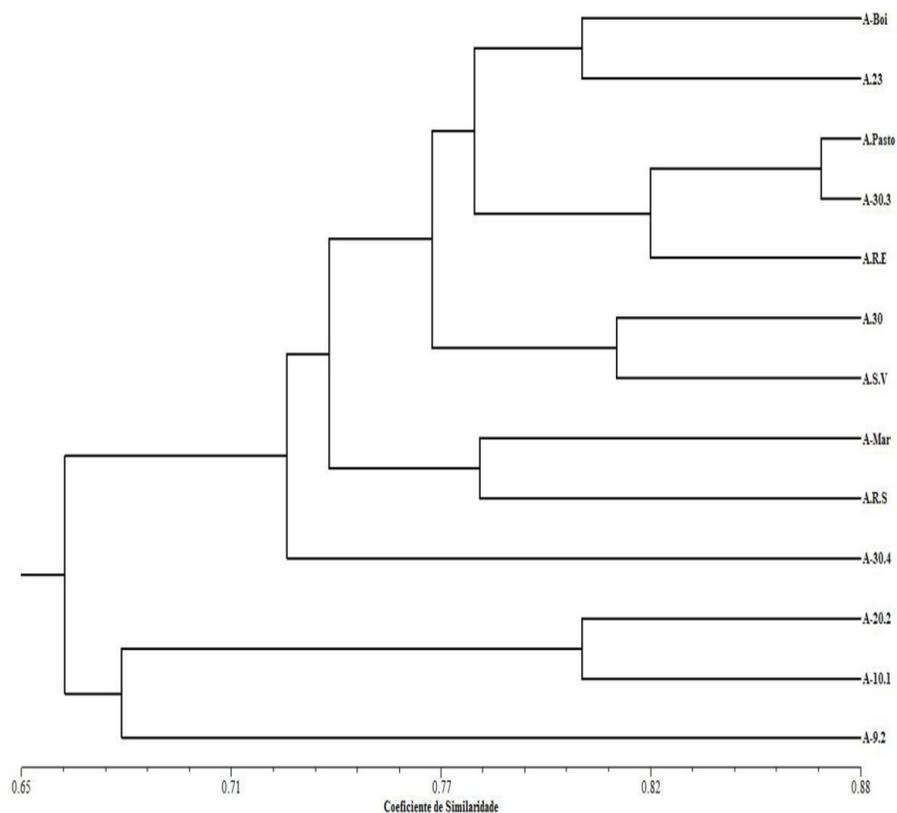


Figura 2 Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir das medidas de similaridade genética entre 13 acessos de *Psidium cattleianum* caracterizado por marcadores RAPD, usando o Simple matching Coefficient

Considerando *P. cattleianum* os acessos se agruparam conforme a região de origem em seis grupos, sendo que o acesso mais divergente é originário da região de Lavras – MG (A- 9.2) com 0,70 evidenciando maior diversidade genética. Neste estudo as distâncias genéticas variaram de 0,88 a 0.65 (Figura 2). Pode-se observar que o acesso oriundo de Pelotas-RS (A-R.S), posicionou-se no mesmo ramo do acesso da região de Carrancas-MG (A-Amar),

com similaridade entre ambos de 0,75. Já os acessos oriundos de Itumirim-MG (A-Pasto e A-30.3), mostraram uma similaridade de 0,87.

Observou-se também uma mistura genotípica entre os acessos de *P. cattleaynum*, independentemente do Estado de origem. A esse respeito, Upadhyay; Murty (1970) afirmam que a deriva genética e a seleção, em diferentes ambientes, podem causar maior divergência que a distância geográfica.

Os treze acessos de *P. guineense*, todos suscetíveis a *M. enterolobii*, sendo 12 oriundos de Recife e um oriundo de Pelotas (A-14.1), agruparam-se em arranjos com similaridades variando de 0,59 a 0,83. O acesso proveniente de Pelotas-RS foi o que apresentou maior diferença agrupou-se separadamente dos demais com similaridade de 0,59 apresentando a maior distância genética. Os acessos A-14.3 e A-26.2 com similaridade de 0,83 foram os mais próximos. Embora a maioria dos acessos seja proveniente de um mesmo local, estes apresentaram uma variabilidade genética considerável.

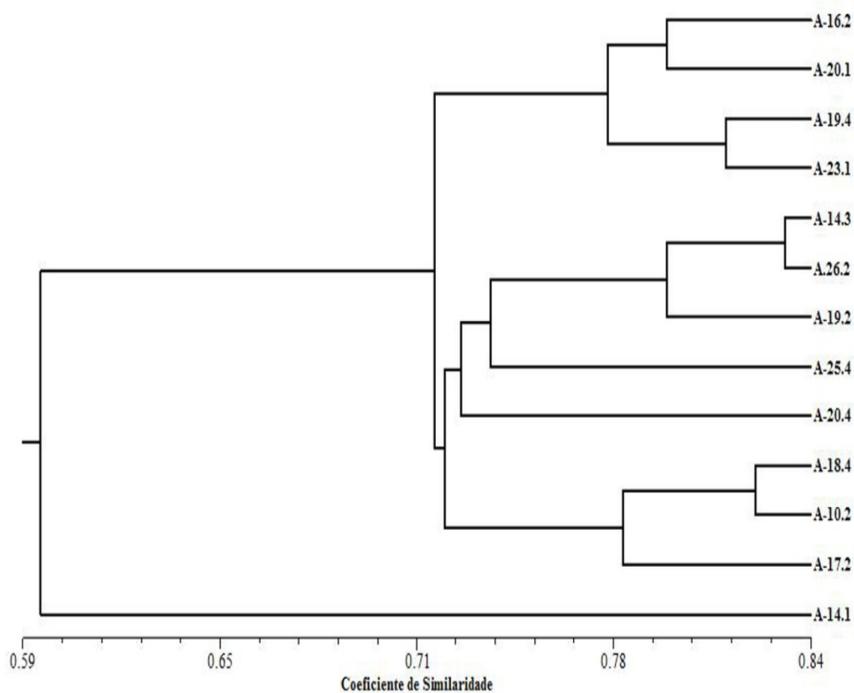


Figura 3 Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir das medidas de similaridade genética entre 13 acessos de *Psidium guineense* caracterizado por marcadores RAPD, usando o Simple matching Coefficient

Em estudo de diversidade genética em goiabeira realizado por Padilla-Ramírez et al. (2002), utilizando marcadores moleculares (RAPD), observaram que, na região de Calvillo-Cañones (México), há reduzida variabilidade genética, pois nos materiais avaliados encontrou-se uma similaridade genética da ordem de 88%.

Os resultados aqui encontrados demonstram que, entre os materiais estudados, existe uma variabilidade genética considerável, fato este que proporciona aos melhoristas materiais com grande potencial para a obtenção de genótipos superiores. Os maiores valores de similaridade, ou seja, os materiais

mais semelhantes foram os acessos G-Amar e G.C.F. com 0,82, ambos coletados em Carrancas-MG (Figura 4). Em contrapartida, o acesso que apresentou a maior distância genética, quando comparado aos demais, foi G-Ufla (Lavras-MG) com 0,63.

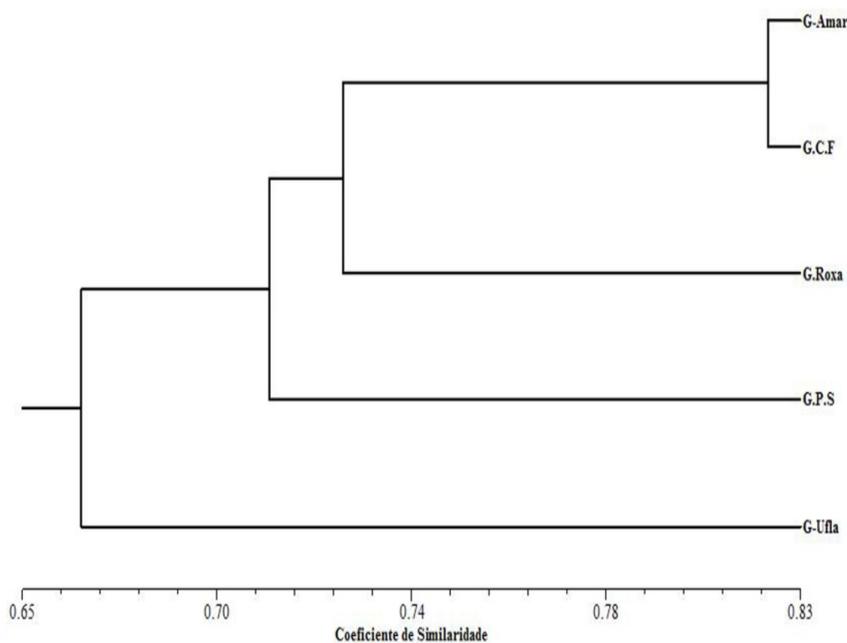


Figura 4 Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir das medidas de similaridade genética entre cinco acessos de *Psidium guajava* caracterizado por marcadores RAPD, usando o Simple matching Coefficient

O alto grau de polimorfismo detectado pode estar relacionado ao sistema de polinização mista da goiabeira e ao fato da cultura possuir uma taxa maior de fecundação cruzada quando comparada à autofecundação (ALVES; FREITAS, 2007), ou ainda à intensa utilização de sementes na produção de mudas, o que acarretaria em ampla variabilidade genética. Segundo Oliveira et al. (2007), há tendência em germoplasma de plantas arbóreas e arbustivas, alógamas ou

autógamas, com alta taxa de alogamia, de apresentarem alto grau de polimorfismo.

Fontes de resistência a *M. enterolobii* foram encontradas nos acessos nativos de *P.cattleaynum*, pertencentes às regiões de Carrancas - MG, Itumirim - MG e Lavras - MG, e nos acessos de *Psidium* sp, A-lu1, A-lu2 e A-lu3 de Araçazeiro Amarelo (Tabela 1).

A similaridade média encontrada neste trabalho, de 71%, mostrou que os acessos apresentam características em comum. Assim, os dados gerados poderão servir de norteamento para futuros trabalhos de compatibilidade entre os genótipos estudados visando obtenção de porta enxerto resistentes a *M. enterolobii* para goiabeiras comerciais.

Os marcadores RAPD foram eficientes na identificação de polimorfismo de DNA em goiabeiras e araçazeiros permitindo a aproximação de materiais com características de resistência ao nematóide e também pela origem dos mesmos. Apesar da identificação de acessos resistentes a *M. enterolobii* em genótipos da espécie *P. cattleyanum*, os mesmos não se mostraram compatíveis, quanto à enxertia com a cultivar ‘Pedro Sato’. Entretanto, testes de compatibilidade quanto à enxertia dos materiais já identificados como resistentes com outras cultivares de goiabeira comercial, como “Paluma”, deverão ser efetuados, como também a busca de novas fontes de resistência no gênero *Psidium* deverão ser objetivos a serem alcançados em trabalhos futuros.

4 CONCLUSÕES

Os marcadores RAPD foram eficientes em agrupar os acessos de *Psidium* ssp, de acordo com a similaridade genética e aproximou os acessos considerados resistentes ao nematóide *M. enterolobii*.

Os iniciadores OPAH 03, OPAH 04, OPAH 11, OPAH 12, OPA 10, OPA 12, UBC 132, UBC135, UBC153, BR65, PC11, PRIMER 1, PRIMER 3, PRIMER 6, PRIMER 7 e PRIMER 15 são indicados para estudos de diversidade em goiabeiras, utilizando-se o marcador do tipo RAPD, já que apresentaram em média de 5,3 marcas polimórficas.

Os acessos Alu1, Alu2 e Alu3 apresentaram resistentes a *M. enterolobii*, formam um subgrupo de *Psidium* sp, mostrando similaridade genética.

REFERENCIAS

BARROS, A. M.; FALEIRO, F. G.; KARIA, C. T.; SHIRATSUCHI, L. S.; ALVES, J. E.; FREITAS, B. M. Requerimentos de polinização da goiabeira. **Ciência Rural**, v. 37, n. 5, p. 1281-1286, 2007.

AREIAS, R. G. B. M.; PAIVA, D. M.; SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. Similaridade genética de variedades crioulas de arroz, em função da morfologia, marcadores RAPD e acúmulo de proteínas nos grãos. **Bragantia**, v. 65, n. 1, p. 19-28, 2006.

ANDRADE, R. P.; LOPES, G. K. B. Variabilidade genética e ecológica de *Stylosanthes macrocephala* determinadas por RAPD e SIG. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 9, p. 899-909, 2005.

CARNEIRO, R.M.D.G.; MOREIRA, W.A.; ALMEIDA, M.R.A.; GOMES, A.C.M.M. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.25, n2, p.223-228, 2001.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.1, p.13- 15, 1990.

FILHO, A.G.; OLIVEIRA, J.G.; VIANA, A.P.; SIQUEIRA, A.P.O.; OLIVEIRA, M.G.; PEREIRA, M.G. Marcadores moleculares RAPD e descritores morfológicos na avaliação da diversidade genética de goiabeiras (*Psidium guajava* L.). **Acta Scientiarum. Agronomy** Maringá, v. 32, n. 4, p. 627-633, 2010.

GOMES, V.M.; SOUZA, R.M.; SILVA, M.M.; DOLINSKI, C. Caracterização do estado nutricional de goiabeiras em declínio parasitadas por *Meloidogyne mayaguensis*. **Nematologia Brasileira**, v.32, n.2, p.154-160, 2008.

HARTMAN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR., F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 6. ed. New Jersey: Prentice Hall, 1997. 770 p.

OLIVEIRA, M. S. P.; AMORIM, E. P.; SANTOS, J. B.; FERREIRA, D. F. Diversidade genética entre acessos de açazeiro baseada em marcadores RAPD. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 6, p. 1645-1653, 2007.

PADILLA-RAMÍREZ, J. S.; GONZÁLEZ-GAONA, E.; ESQUIVEL-VILLAGRANA, F.; MERCADO-SILVA, E.; HERNÁNDEZ-DELGADO, S.; MAYEK-PÉREZ, N. Caracterización de germoplasma sobresaliente de guayabo de la región Calvillo-Cañones, México. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 25, n. 4, p. 393-399, 2002.

ROHLF, F. J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system**. Version 2.11. New York: Applied Biostatistics, 2000.

ROZANE, D.E.; COUTO, F.A.d'A. **Cultura da goiabeira: tecnologia e Mercado**. Viçosa: UFV, 2003. p.53-78.

SOUZA, R.M.; NOGUEIRA, M.S.; LIMA, I.M.; MELARATO, M.; DOLINSKI, C.M. Manejo do nematóide das galhas da goiabeira em São João da Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.30, n.1, p.165-169, 2006.

TORRES, G.R.C.; COVELLO, V.N.; SALES JUNIOR, R.; PEDROSA, E.M.R.; MOURA, R. *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* no Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**, 29 (5): p. 570, 2004.

UPADHYAY, M. K.; MURTY, B. R. Genetic divergence in relation to geographical distribution in pearl millet. *Indian Journal of Genetics*, New Delhi, v. 30, p. 704- 715, 1970.

XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M. V.; RUMJANEK, N. G.; FREIRE FILHO, F. R. Variabilidade genética em acessos de caupi analisada por meio de marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 4, p. 353-359, 2005.

WILLIAMS, J.G.K.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. Genetic analysis using RAPD markers. **Methods in Enzymology**, v.218, p.706-740, 1993.