

Variabilidade genética de acessos de araçazeiro e goiabeira suscetíveis e resistentes a *Meloidogyne enterolobii*

Genetic variability of araçá and guava accessions susceptible and resistant *Meloidogyne enterolobii*

Aline das Graças Souza^{I*} Luciane Vilela Resende^I Isabela Pereira de Lima^I
Rosimar Musser dos Santos^{II} Nilton Nagib Jorge Chalfun^I

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 esse 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.cattleyanum*, 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 research 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.cattleyanum*, 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.

Key words: plant resistance to diseases, root-not nematode, genetic markers.

^IDepartamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Campus Universitário, 37200-000, Lavras, MG, Brasil. E-mail: alineufla@hotmail.com.br. *Autor para correspondência.

^{II}Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Campus Universitário, Recife, PE, Brasil.

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 nematoide 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 nematoide. Em casos mais graves, pomares adultos têm sido erradicados aos quatro anos (GOMES et al., 2008). No manejo integrado de nematoide, o uso de cultivares resistentes 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.

MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais foram coletados a partir de 35 acessos de araçazeiro e 5 acessos de goiabeira, oriundos de regiões próximas ao município de Lavras (MG), sendo 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).

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 50mg 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 2,0mL. 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).

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 10µL, contendo: 1,59µl de água miliq, 1,3µl de tampão (1x), 0,65µl MgCl₂ (2,5mM), 0,26µl de dNTPmix (0,2mM), 5,0µl de primer (25ng), 0,2µl da Taq DNA polimerase (1U) e 1µl de DNA (20ng). Foi seguida a metodologia de WILLIAMS et al. (1993).

O programa de amplificação consistiu em 95°C de temperatura inicial por 2min, 45 ciclos de amplificação a 94°C por 45seg; 42°C por 1min; 72°C por 2min (FILHO, et al., 2010). Após as reações, os produtos de amplificação do DNA foram separados em gel de agarose 1,5%, contendo Syber Gold e

Tabela 1 - 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 sp.</i>	R
A-Ufla5	Lavras-MG	Araçazeiro	<i>Psidium sp.</i>	S
A-Ufla1	Lavras-MG	Araçazeiro	<i>Psidium sp.</i>	S
A-Ufla4	Lavras-MG	Araçazeiro	<i>Psidium sp.</i>	S
A- lu1	Itumirim-MG	Araçazeiro	<i>Psidium sp.</i>	R
A- lu2	Itumirim-MG	Araçazeiro	<i>Psidium sp.</i>	R
A- lu3	Itumirim-MG	Araçazeiro	<i>Psidium sp.</i>	R
G-Amar	Patos de Minas-MG	Goiabeira-amarela	<i>P. guajava</i>	S
A-Roxo-c	Carrancas-MG	Araçazeiro	<i>Psidium sp.</i>	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 sp.</i>	R
A-14.3	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. guineense</i>	S
A-Boi	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. cattleyanum</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. cattleyanum</i>	R
A-30	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. cattleyanum</i>	R
A.S.V	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. cattleyanum</i>	R
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. cattleyanum</i>	R
A-30.4	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. cattleyanum</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. cattleyanum</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. cattleyanum</i>	S
G.Roxa	Carrancas-MG	Goiabeira-roxa	<i>P. guajava</i>	S
A-30.3	Itumirim-MG	Araçazeiro	<i>P. cattleyanum</i>	R
A-R.E	Ingai-MG	Araçazeiro	<i>P. cattleyanum</i>	M.R
A-20.2	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. cattleyanum</i>	S
A-10.1	Recife-PE	Araçazeiro	<i>P. cattleyanum</i>	S
A-9.2	Lavras-MG	Araçazeiro	<i>P. cattleyanum</i>	S

submetidos à eletroforese em tampão TBE 1X. Após a amplificação, os fragmentos foram visualizados por meio de eletroforese em gel. Para efeito de comparação de tamanho dos fragmentos amplificados, foi utilizado como padrão o DNA Ladder 100bp, 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 usados 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*).

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		
Operon		Total	Bandas polimórficas	% de bandas polimórficas
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

RESULTADOS E DISCUSSÃO

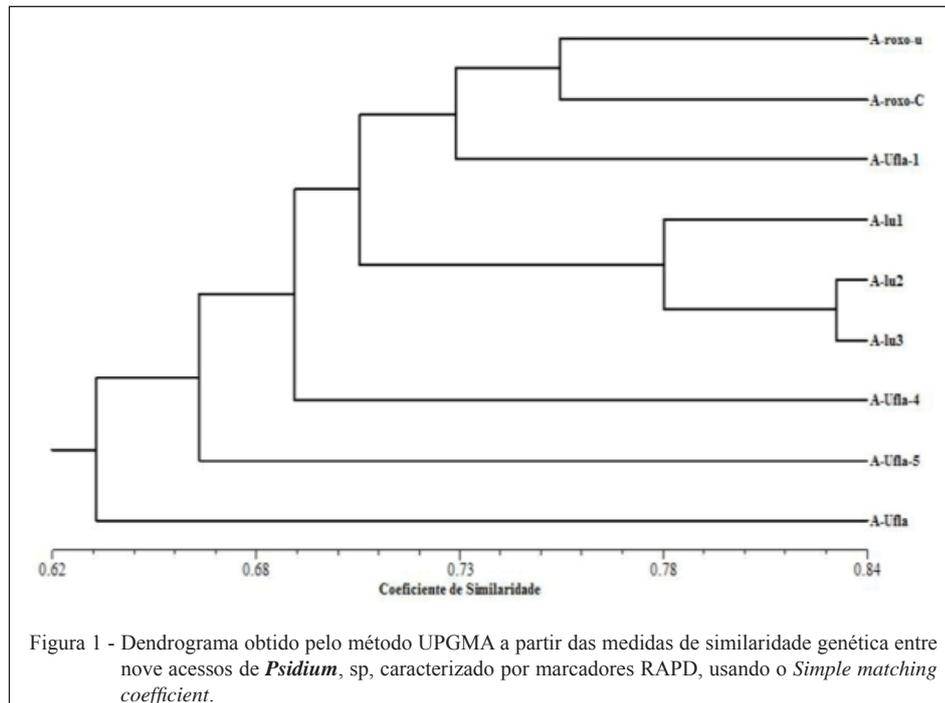
Dentre os *primers* estudados, UBC-155, PRIMER 2, PRIMER 5 geraram produtos monomórficos, e os fragmentos produzidos por OPAH 03, OPAH 04, OPAH 11, OPAH 12, OPA 10, OPA 12, UBC 132, UBC135, UBC153, BR65, PC11, PRIMER 1, PRIMER 3, PRIMER 6, PRIMER 7 e PRIMER 15 apresentaram polimorfismo (Tabela 2). Foram 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).

O primeiro subgrupo foi formado pelos acessos A-roxo-u, A-roxo-c e A-Ufla1, sendo resistentes a *M. enterolobii* e os acessos A-lu1, A-lu2 e A-lu3, todos apresentaram-se 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 nematoide em questão, com uma similaridade aproximada de 66%. Dessa forma, evidencia-se que estes acessos são genótipos diferenciados e apresentaram respostas também diferenciadas em relação à resistência ao nematoide. Segundo ROTILI et al. (2012), 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).

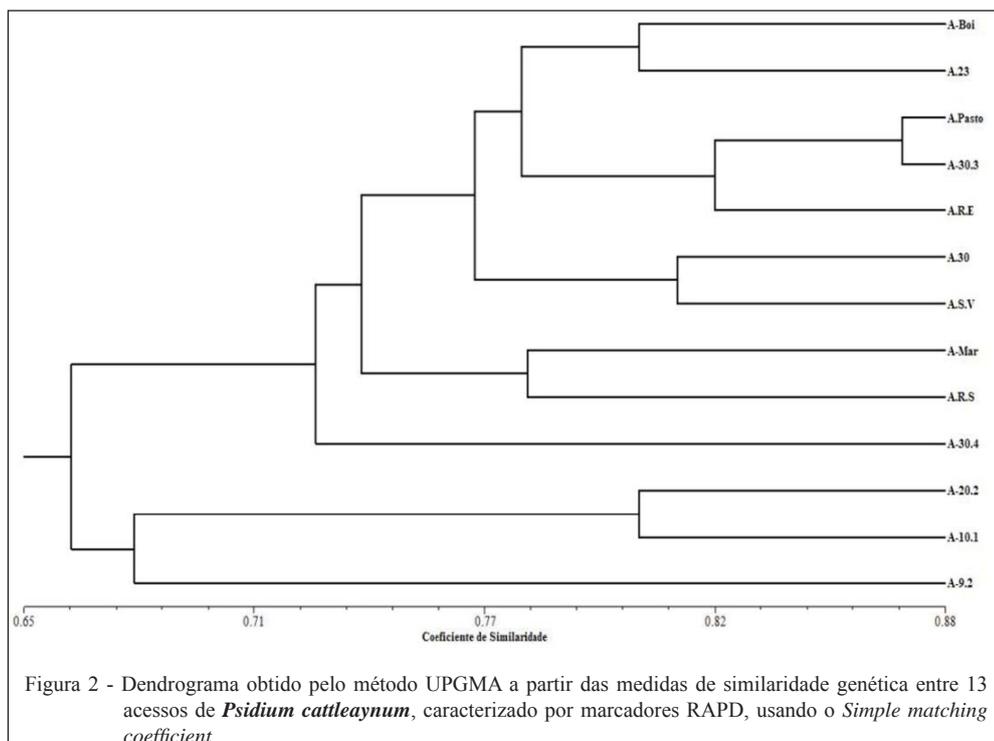
Na análise de agrupamento dos treze acessos de *P. cattleaynum* (Figura 2), foi possível constatar a formação de dois grandes grupos. Um formado por três acessos suscetíveis a *M. enterolobii* (A-20.2, A-10.1 e A-9.2) e outro grupo formado por dez acessos, em que A-Pasto (susceptível), A-30.3 (resistente), A.R.E (moderadamente resistente), sendo que 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. Dessa 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.

Considerando *P. cattleianum*, os acessos se agruparam conforme a região de origem em seis grupos, sendo que o acesso mais divergente foi

(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 (A-R.S) posicionou-se no mesmo ramo do acesso (A-Amar), com similaridade entre ambos



de 0,75. Já os acessos (A-Pasto e A-30.3) mostraram uma similaridade de 0,87.

Observou-se também uma mistura genotípica entre os acessos de *P. cattleianum*, 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*, (Figura 3) 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.

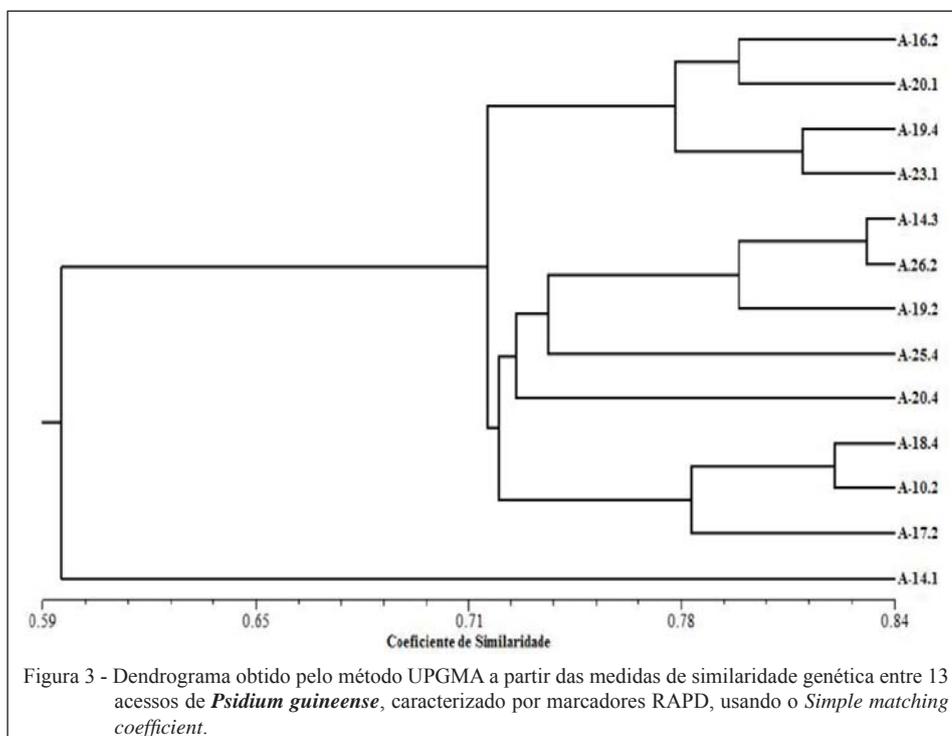
Em estudo de diversidade genética em goiabeira, realizado por PADILLA-RAMÍREZ et al. (2002), utilizando marcadores moleculares (RAPD), eles observaram que, na região de Calvillo-Cañones (México), há reduzida variabilidade genética, pois nos materiais avaliados encontrou-se uma similaridade genética da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

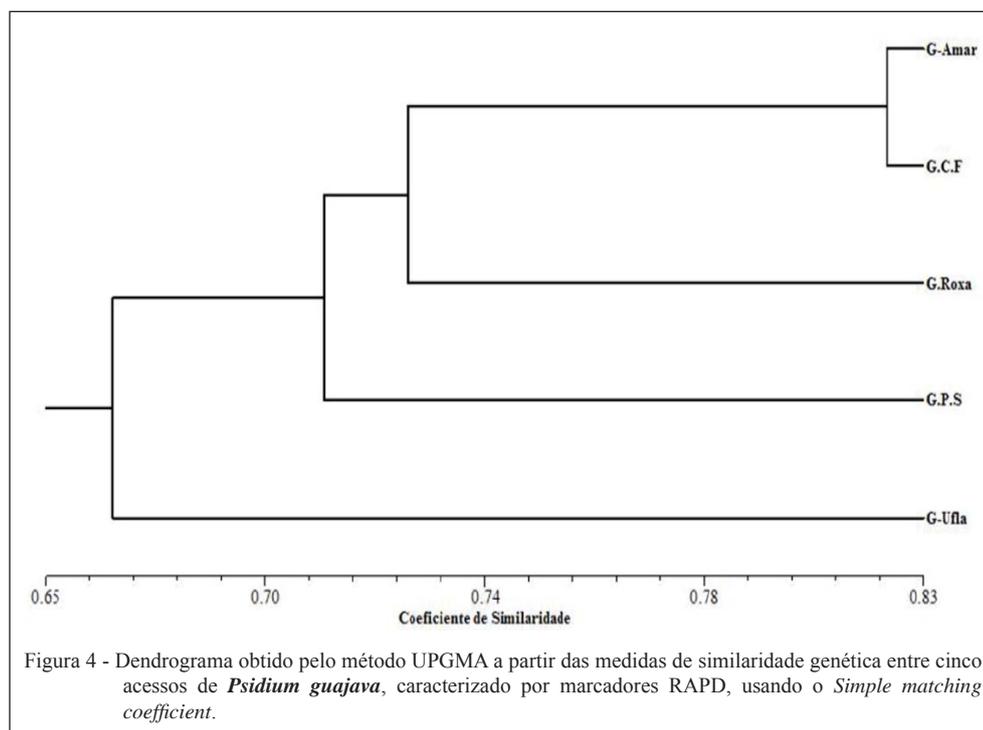
Os resultados aqui encontrados demonstram que, entre os materiais estudados, existe uma variabilidade genética considerável, fato este que proporciona aos melhoristas materiais com grande potencial para a obtenção de genótipos superiores. Os maiores valores de similaridade, ou seja, os materiais mais semelhantes foram os acessos G-Amar e G.C.F. com 0,82, (Figura 4). Em contrapartida, o acesso que apresentou a maior distância genética, quando comparado aos demais, foi G-Ufla, com 0,63.

O alto grau de polimorfismo detectado pode estar relacionado ao sistema de polinização mista da goiabeira e ao fato de a 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. cattleianum*, 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 norteamo para futuros trabalhos de compatibilidade entre os genótipos estudados, visando à obtenção de porta enxertos 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 nematoide e também pela sua origem. Apesar da identificação de acessos resistentes a *M. enterolobii* em genótipos da espécie *P. cattleianum*, eles 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.

CONCLUSÃO

Os marcadores RAPD foram eficientes em agrupar os acessos de *Psidium* ssp, de acordo com a similaridade genética, e aproximaram os acessos considerados resistentes ao nematoide *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-se resistentes a *M. enterolobii*, formando um subgrupo de *Psidium* sp, mostrando similaridade genética.

REFERÊNCIAS

- ALVES, J.E.; BRENO, B.M. Requerimentos de polinização da goiabeira. *Ciência Rural*, v.37, n.5, p.1281-1286, 2007. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33137510>>. Acesso em: 18 dez. 2013. ISSN (Versão impressa): 0103-8478.
- AREIAS, R.G B.M. et al. 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. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-87052006000100004>. Acesso em: 18 dez. 2013. doi.org/10.1590/S0006-87052006000100004.
- CARNEIRO, R.M.D.G. et al. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. *Nematologia Brasileira*, v.25, n.2, 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. et al. 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. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1807-86212010000400009&script=sci_arttext>. Acesso em: 18 dez. 2013. doi.org/10.4025/actasciagri.v32i4.4720.
- GOMES, V.M. et al. 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. et al. **Plant propagation: principles and practices**. 6.ed. New Jersey: Prentice Hall, 1997. 770p.
- OLIVEIRA, M.S.P. et al. Diversidade genética entre acessos de açaizeiro baseada em marcadores RAPD. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.6, p.1645-1653, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S141370542007000600007&script=sci_arttext>. Acesso em: 18 dez. 2013. doi.org/10.1590/S1413-70542007000600007.
- PADILLA-RAMÍREZ, J.S. et al. Caracterización de germoplasmas o bresaliente de guayabo de la región Calvillo-Cañones, México. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v.25, n.4, p.393-399, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0568-25172007000200009&lng=es&nrm=iso>. Acesso em: 18 dez. 2013.
- ROHLF, F.J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system**. Version 2.11. New York: Applied Biostatistics, 2000. 134p.
- ROZANE, D.E.; COUTO, F.A.D'A. **Cultura da goiabeira**. Viçosa: UFV, 2003. 213p.
- ROTILI, E.A. et al. Divergência genética em genótipos de milho, no estado do Tocantins. **Revista Ciência Agronômica**, v.43, n.3, p.70-76, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1806-66902012000300014&script=sci_arttext>. Acesso em: 18 dez. 2013. doi.org/10.1590/S1806-66902012000300014.
- SOUZA, R.M. et al. Manejo do nematoide das galhas da goiabeira em São João da Barra (RJ) e relato de novos hospedeiros. **Nematologia Brasileira**, v.30, n.1, p.165-169, 2006.
- TORRES, G.R.C. et al. *Meloidogyne mayaguensis* em *Psidium guajava* no Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.5, p.570, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-29452012000200027&script=sci_arttext>. Acesso em: 18 dez. 2013. doi.org/10.1590/S0100-29452012000200027.
- UPADHYAY, M.K.; MURTY, B.R. Genetic divergence in relation to geographical distribution in pearl millet. **Indian Journal of Genetics**, v.30, p.704-715, 1970. Disponível em: <<http://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ijgpb&volume=30&issue=3&article=028>>. Acesso em: 18 dez. 2013.
- XAVIER, G.R. et al. Variabilidade genética em acessos de caupi analisada por meio de marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.4, p.353-359, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v40n4/24174.pdf>>. Acesso em: 18 dez. 2013.
- WILLIAMS, J.G.K. et al. Genetic analysis using RAPD markers. **Methods in Enzymology**, v.218, p.706-740, 1993.