

# Marcadores moleculares RAPD e descritores morfológicos na avaliação da diversidade genética de goiabeiras (*Psidium guajava* L.)

Aroldo Gomes Filho\*, Jurandi Gonçalves de Oliveira, Alexandre Pio Viana, Ana Paula de Oliveira Siqueira, Marcos Góes Oliveira e Messias Gonzaga Pereira

Universidade Estadual do Norte Fluminense "Darcy Ribeiro", Av. Alberto Lamego, 2000, 28013-602, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: agomes@uenf.br

**RESUMO.** O conhecimento da variabilidade genética e fenotípica entre diferentes acessos de goiabeiras é importante para se apoiar programas de melhoramento dessa espécie na região Norte Fluminense que carece de novas culturas capazes de gerar renda aos produtores locais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a divergência genética entre seis cultivares e 19 acessos de goiabeiras, por meio de marcadores moleculares RAPD e características morfoagronômicas. Foram obtidas 117 marcas polimórficas, utilizando-se 28 iniciadores. Os resultados mostraram uma concordância parcial entre os métodos de agrupamentos estudados, com a formação de 12 grupos. O acesso Vita 3 e o acesso 6 foram os mais divergentes, apresentando distância genética de 0,663. A análise comparativa dos agrupamentos revelou que os marcadores RAPD e os descritores morfológicos foram eficientes para discriminação dos acessos e que houve variabilidade genética potencial para uso em Programa de Melhoramento Genético.

**Palavras-chave:** polimorfismo, variabilidade genética, método de otimização de Tocher, método hierárquico UPGMA.

**ABSTRACT.** RAPD molecular markers and morphological descriptors in the evaluation of genetic diversity of guava (*Psidium guajava* L.). The knowledge of the genetic and phenotypic variability among different accessions of guava is important for supporting improvement programs of this specie in northern Rio de Janeiro state, which needs new cultivars able to generate income for local farmers. This work aimed to evaluate the genetic divergence among six cultivars and 19 accessions of guava via RAPD molecular markers and morphological characteristics. One hundred and seventeen polymorphic markers were obtained from 28 primers. The results showed a partial agreement between the methods of studied groupings, with the formation of 12 groups. The accessions 'Vita 3' and '6' were the most divergent, showing genetic distance of 0.663. The comparative analysis of groupings showed that RAPD markers and morphological descriptors were effective in discriminating the accessions and to show potential genetic variability useful in genetic improvement programs.

**Key words:** polymorphic, genetic variability, Tocher's optimization method, UPGMA cluster analysis.

## Introdução

A goiabeira (*Psidium guajava*, L.) é originária da região tropical do continente americano, com provável centro de origem localizado na região compreendida entre o Sul do México e o Norte da América do Sul. Atualmente, esta espécie encontra-se amplamente difundida por todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo (SAMSON, 1986).

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) é uma planta de grande importância econômica para o Brasil, já que este encontra-se entre um dos três maiores produtores mundiais de goiaba, depois da China e da Índia (AZZOLINI et al., 2004). Esta cultura rendeu, em 2005, R\$ 165 milhões pela produção de 345,5 mil toneladas, com uma produtividade média aproximada de 21,6 t ha<sup>-1</sup>, sendo cultivada

principalmente nos Estados de São Paulo, Pernambuco e Bahia, que, juntos, produziram em 2004 aproximadamente 75% da produção nacional (IBGE, 2008). O Estado do Rio de Janeiro atualmente ocupa a nona colocação entre os estados produtores de goiaba, com aproximadamente 2,8% da produção nacional (IBGE, 2008).

A fruticultura na região Norte Fluminense é potencialmente uma alternativa para os produtores locais, quer seja pelas condições edafoclimáticas, pela proximidade às instalações portuárias, ou mesmo como alternativa à monocultura canavieira. A região carece de culturas alternativas que possam incrementar a economia local, sendo a fruticultura uma alternativa viável. Dentre as espécies frutícolas, a goiaba destaca-se pelas suas qualidades nutricionais, sendo a fruta rica em ácido ascórbico,

cálcio, vitamina E, fibras, licopeno, vitaminas A, B6 e B2 (LIMA et al., 2002). Estas qualidades nutricionais, aliadas às condições edafoclimáticas da região Norte Fluminense, colocam este fruto como uma excelente alternativa de produção para os produtores locais.

Entretanto, nos pomares brasileiros de goiabeiras se observa alta variabilidade entre os materiais cultivados, resultado do uso continuado da propagação seminal (SANTOS et al., 1998). Esta prática de propagação pode afetar importantes características como produtividade, hábito de crescimento e porte das plantas, arquitetura da copa, cor, sabor, consistência e tamanho dos frutos, além de rendimento de polpa, entre outras. A alta variabilidade dos materiais genéticos, aliada à procura por materiais adaptados às condições do Estado do Rio de Janeiro, justifica, assim, a introdução de um Programa de Melhoramento Genético Vegetal, que vise à seleção de indivíduos superiores ou como base para a geração de híbridos melhores adaptados ao Norte Fluminense e com características de interesse do mercado consumidor.

Atualmente, os programas de melhoramento genético têm utilizado a associação de técnicas clássicas a ferramentas biotecnológicas como, por exemplo, o uso de marcadores moleculares. 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). Na literatura há vários trabalhos empregando esta técnica para estudos da diversidade genética em diversas culturas, dentre os quais se destacam os estudos com aceroleira (SALLA et al., 2002), bananeira (SOUZA et al., 2008), açaizeiro (OLIVEIRA et al., 2007), milho pipoca (VILELA et al., 2008), *Brachiaria* (AMBIEL et al., 2008) e maracujazeiro (VIANA et al., 2005). 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%.

Além dos marcadores moleculares, podem ser utilizados, para a caracterização da variabilidade de germoplasma, dados morfológicos, destacando-se os

descritores morfoagronômicos, utilizados para se descrever um acesso. Segundo Dias e Kageyama (1991), quando a caracterização é realizada por meio de dados morfológicos, a quantificação da diversidade entre acessos só terá significado se a divergência fenotípica refletir a divergência genética.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética existente entre acessos de goiabeiras, via marcadores moleculares RAPD e descritores morfológicos, visando à identificação de genótipos promissores, adequados para a utilização em programas de melhoramento desta cultura.

## Material e métodos

O presente trabalho foi desenvolvido durante o período de janeiro a junho de 2008, em uma fazenda localizada no município de Bom Jesus do Itabapoana que se localiza na região Noroeste Fluminense, situado a 21° 08' 02" S e 41° 40' 47" W, com altitude de 88 m, clima tipo Aw, tropical sub-úmido e seco, com temperatura média anual oscilando de 22 a 25°C e precipitação média anual entre 1.200 e 1.300 mm.

O material avaliado consta de seis cultivares de goiabeiras sendo elas: Paluma, Século XXI, Pedro Sato, Kumagai, Sassaoka e Cortibel Tipo 3, além de 19 acessos de uma população, sendo estes: acesso 1, acesso 2, acesso 3, acesso 4, acesso 5, acesso 6, acesso 7, acesso 8, 'vita 1', 'vita 2', 'vita 3', 'vita 4', 'vita 5', 'Grande', 'Folha Fina', 'Milho', 'Precoce' e 'Branca'. Os acessos foram selecionados pelo método massal a partir de uma plantação comercial no mesmo município, observando-se as características favoráveis de formato do fruto e de resistência a doenças. Os acessos com sete anos de idade foram selecionados e propagados por enxertia do tipo garfagem, utilizando-se como porta-enxerto a variedade Paluma.

Para a caracterização morfológica dos acessos foram utilizados sete descritores qualitativos propostos por UPOV (1987), sendo considerada a moda de quatro plantas por acesso. Foram avaliados os descritores qualitativos: cor do caule; formato dos ramos; diâmetro do caule; formato da folha; coloração da folha; formato da base das folhas e formato do ápice das folhas.

A técnica de RAPD, realizada no Laboratório de Marcadores Moleculares da Universidade Estadual do Norte Fluminense – Darcy Ribeiro, utilizou 50 mg de folhas jovens, sadias, coletadas a partir do ápice dos ramos para a extração do DNA, sendo utilizada a metodologia adaptada do protocolo de Doyle e Doyle (1990).

A seleção dos *primers* utilizados no experimento foi realizada com base no polimorfismo apresentado

no trabalho de Padilla-Ramírez et al. (2002). Foram selecionados 28 *primers* (OPA 02, OPA 03, OPA 05, OPA 06, OPA 08, OPA 09, OPA 10, OPA 11, OPA 12, OPA 18, OPA 20, OPB 18, OPB 20, OPC 18, OPC 19, OPAB 02, OPAB 03, OPAB 04, OPAB 08, OPAB 09, OPAB 17, OPAB 18, OPAB 19, OPAB 20, OPAC 04, OPAC 06, OPAC 07 e OPAC 20) provenientes da empresa Operon Technologies.

As reações de amplificação dos fragmentos de DNA (PCR) foram feitas em termociclador modelo Martercyler gradient (Eppendorf), num meio com volume final de 20  $\mu\text{L}$  contendo: 7,80  $\mu\text{L}$  de água ultrapura; 2  $\mu\text{L}$  de tampão de amplificação (100 mM Tris-HCl pH 8,3, 50 mM KCl); 1,60  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  (25 mM); 1,0  $\mu\text{L}$  de DNTPs (2 mM de cada um dos desoxiribonucleotídeos dATP, dTTP, dCTP, dGTP); 2,0  $\mu\text{L}$  de iniciador (5 mM); 5,0  $\mu\text{L}$  de DNA genômico (5 ng) e 0,6 unidades de Taq de DNA polimerase. Foram adicionados a microtubos 2,0  $\mu\text{L}$  de DNA e, paralelamente, foi preparado um mix contendo todos os demais reagentes nas concentrações mencionadas, e a cada mix foi adicionado um iniciador diferente. Destas soluções foram retirados 18  $\mu\text{L}$  e adicionados aos microtubos, totalizando os 20  $\mu\text{L}$  da reação. Foram utilizados 45 ciclos consistindo de 1 min a 95°C, seguidos de 1 min. a 36°C e 2 min. a 72°C, além de uma etapa final para extensão, consistindo de 7 min. a 72°C.

Após as reações, os fragmentos amplificados foram submetidos à corrida de eletroforese (100 V por 90 min.) em gel de Agarose a 2% ( $\text{p v}^{-1}$ ), utilizando-se o tampão TAE 0,5 X. Para efeito de comparação de tamanho dos fragmentos amplificados foi utilizado como padrão o DNA Ladder 250 bp adquirido da INVITROGEN Life Technologies.

Os dados foram analisados considerando-se a presença (1) ou a ausência (0) de bandas. O coeficiente para o cálculo de similaridade genética utilizada para a análise dos indivíduos foi o complemento aritmético do índice de Jaccard (ROHLF, 2000).

Os dados foram analisados, utilizando-se os recursos computacionais do programa Genes (CRUZ, 2006). Com base na matriz de dissimilaridade, utilizaram-se os métodos de agrupamento de otimização de Tocher e o método hierárquico da média das distâncias genéticas UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average) sendo empregado o complemento do coeficiente de Jaccard como coeficiente de dissimilaridade. O coeficiente médio de similaridade foi determinado pela média aritmética de todas as similaridades das amostras entre si.

Adicionalmente, foi realizado o método de agrupamento de otimização de Tocher para os dados

morfológicos, utilizando-se como coeficiente de dissimilaridade o proposto por Cole-Rodgers (COLE-RODGERS et al., 1997) e o cálculo do coeficiente de correlação cofenético (SOKAL; ROHLF, 1962) para a estimativa do ajuste entre a matriz de dissimilaridade e o dendograma gerado.

## Resultados e discussão

No experimento, foram testados 30 iniciadores, dos quais 28 forneceram produtos nítidos para a amplificação. Os iniciadores foram utilizados em toda a população, gerando 117 marcas polimórficas e 16 monomórficas, resultando em uma média de 4,2 bandas polimórficas por iniciador. O número de marcas polimórficas por iniciador variou de um a oito, totalizando 87,97% de polimorfismo. Os iniciadores OPA 03, OPA 05, OPA 10, OPA 12 e OPC 19 destacaram-se entre os demais, apresentando entre seis e oito marcas polimórficas. Em estudo de diversidade genética em goiaba 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. Os resultados aqui encontrados demonstram que, nos materiais estudados, existe alta variabilidade genética, fato este que proporciona aos melhoristas materiais com grande potencial para a obtenção de materiais superiores.

As dissimilaridades (complemento do coeficiente de Jaccard) entre os acessos variaram de 0,208 a 0,663, apresentando distância genética média de 0,452. Os menores valores de dissimilaridade, ou seja, os materiais mais semelhantes foram os acessos 2 e 3. Em contrapartida, os materiais que apresentaram as maiores distâncias genéticas entre si foram o 'vita 3' e o acesso 6. Este alto grau de polimorfismo pode estar relacionado ao sistema de polinização mista da goiabeira e ao fato de esta 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.

A partir das análises de agrupamento pelo método de otimização de Tocher foi possível separar os 25 materiais em 12 grupos distintos em que se observa a presença de 12 indivíduos (48%) no primeiro grupo (Tabela 1). Este grupo foi então subdividido, resultando na formação de seis subgrupos distintos. Geralmente, grupos constituídos por grande número de acessos reúnem

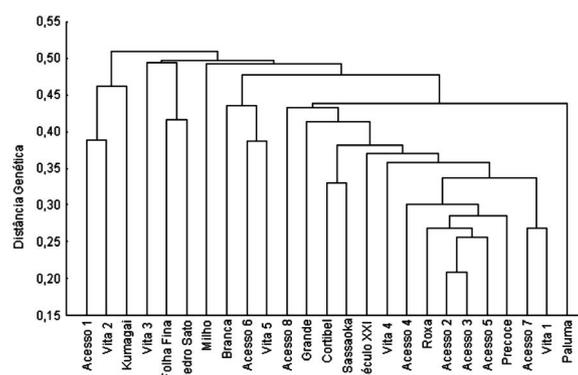
pares que apresentam menores distâncias, uma vez que o tamanho do grupo é delimitado por uma distância média entre os pares de indivíduos.

Os Grupos II e III foram compostos por dois acessos cada, sendo eles o 'vita 5' e o acesso 6 e o acesso 'vita 2' e o acesso 1, respectivamente. Os demais grupos apresentaram apenas um acesso cada (Tabela 1). 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. As variedades analisadas, de modo geral, ficaram dispostas em grupos diferentes, com exceção da Cortibel e da Século XXI que ficaram agrupadas no Grupo I juntamente com mais dez acessos, demonstrando certo grau de semelhança genética. Esta semelhança não é fator limitante, visto que a goiaba Cortibel foi selecionada a partir de plantas provenientes de sementes de uma variedade não-identificada (COSTA; PACOVA, 2003). Este fato proporciona ampla variabilidade genética, decorrente de segregação gamética, sendo possível selecionar materiais superiores. Consequentemente, quando o Grupo I foi subagrupado, verificou-se que os acessos semelhantes reduziram para cinco, o que comprova, portanto, a existência desta variabilidade genética entre esses materiais (Tabela 1).

Utilizando-se o método de agrupamento UPGMA, observou-se também a formação de 12 grupos, considerando-se uma dissimilaridade relativa a 40% do ponto de delimitação (Figura 1). Os resultados apresentados pelo método de agrupamento UPGMA foram semelhantes aos encontrados pelo agrupamento feito pelo método de Tocher (Tabela 1), com exceção feita apenas pela cultivar Sassaoka que ficou agrupada

juntamente com a Cortibel e a Século XXI e o acesso 'Grande' que ficou em um grupo sozinho.

Os resultados apresentados pelo método de agrupamento mostram que as subdivisões dos materiais são verdadeiras podendo ser consideradas bastante seguras, uma vez que se observa para o dendrograma um coeficiente de correlação cofenético de 0,81, o que indica bom ajuste entre a matriz de dissimilaridade e a representação gráfica obtida.



**Figura 1.** Dendrograma representativo da divergência genética entre as seis variedades e os 19 acessos de goiabeiras, obtido pelo método UPGMA, utilizando-se o complemento aritmético do índice de Jaccard como medida de dissimilaridade.

Os dados morfológicos (Tabela 2) indicam que, em geral, os materiais analisados possuem coloração do caule avermelhada, com exceção da variedade Cortibel e do acesso Folha Fina que possuem caule verde-amarelado e os acessos 1 e 'Precoce' com caule verde. Quanto ao formato dos ramos, os acessos de 2 a 7, 'Branca', 'Milho', 'Precoce', 'Vita 1', 'Vita 2' e 'Vita 3' apresentaram-se com ramos eretos, assim como a variedade Pedro Sato.

**Tabela 1.** Agrupamento das seis variedades e de 19 acessos de goiabeiras, pelo método de Tocher, com base na dissimilaridade expressa pelo Complemento Aritmético do Índice de Jaccard.

Grupos	Materiais						
I	Acesso 2 'Roxa'	Acesso 3 Cortibel	Acesso 4 'Vita 1'	Acesso 5 Sec. XXI	Acesso 7 'Vita 4'	'Precoce'	'Grande'
II	'Vita 5'	Acesso 6					
III	'Vita 2'	Acesso 1					
IV	Kumagai						
V	Acesso 8						
VI	Sassaoka						
VII	'Folha Fina'						
VIII	'Milho'						
IX	'Vita 3'						
X	Paluma						
XI	Pedro Sato						
XII	'Branca'						
Subagrupamento do Grupo I							
I.I	Cortibel	'Grande'	Acesso 3	'Vita 1'	Acesso 4	Acesso 5	Sec. XXI
I.II	'Roxa'						
I.III	Acesso 7						
I.IV	Acesso 2						
I.V	Precoce						
I.VI	'Vita 4'						

**Tabela 2.** Descritores morfoagronômicos de seis variedades e 19 acessos de goiabeiras provenientes do município de Bom Jesus do Itabapoana, Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Variedades	Descritores						
	CC	FR	DC	FF	CF	FBF	FAF
Cortibel	Verde-amarelo	Espalhado	Médios	Obtusa	Verde-acinzentada	Obtusa	Aguda
Paluma	Avermelhado	Espalhado	Médios	Ovalada	Verde	Cordata	Apiculada
Kumagai	Avermelhado	Inclinado	Médios	Obovada	Verde	Cordata	Apiculada
Século XXI	Avermelhado	Espalhado	Grossos	Oblonga	Verde-amarelada	Cordata	Aguda
Sassaoka	Avermelhado	Inclinado	Grossos	Obovada	Verde	Cordata	Apiculada
Pedro Sato	Avermelhado	Ereto	Grossos	Arredondada	Verde-amarelada	Arredondada	Apiculada
Acessos	Descritores						
	CC	FR	DC	FF	CF	FBF	FAF
Precoce	Verde	Ereto	Finos	Ovalada	Verde	Arredondada	Arredondada
Roxa	Avermelhado	Espalhado	Médios	Obovada	Avermelhado	Arredondada	Apiculada
Grande	Avermelhado	Espalhado	Finos	Oblonga	Verde-amarelada	Arredondada	Apiculada
Milho	Avermelhado	Ereto	Finos	Obovada	Verde-amarelada	Arredondada	Apiculada
Folha Fina	Verde-amarelo	Inclinado	Finos	Oblonga	Verde escuro	Arredondada	Acuminada
Branca	Avermelhado	Ereto	Grossos	Ovalada	Verde	Arredondada	Apiculada
1	Verde	Espalhado	Finos	Obovada	Verde	Obtusa	Apiculada
2	Avermelhado	Ereto	Grossos	Obovada	Verde	Arredondada	Apiculada
3	Avermelhado	Ereto	Grossos	Ovalada	Verde-amarelada	Arredondada	Apiculada
4	Avermelhado	Ereto	Grossos	Obovada	Verde	Obtusa	Aguda
5	Avermelhado	Ereto	Grossos	Ovalada	Verde escuro	Arredondada	Apiculada
6	Avermelhado	Ereto	Grossos	Ovalada	Verde	Arredondada	Apiculada
7	Avermelhado	Ereto	Médios	Obovada	Verde escuro	Arredondada	Aguda
8	Avermelhado	Espalhado	Grossos	Obovada	Verde escuro	Obtusa	Aguda
Vita 1	Avermelhado	Ereto	Grossos	Ovalada	Verde-amarelada	Arredondada	Apiculada
Vita 2	Avermelhado	Ereto	Grossos	Obovada	Verde-amarelada	Arredondada	Arredondada
Vita 3	Avermelhado	Ereto	Grossos	Arredondada	Verde-amarelada	Arredondada	Apiculada
Vita 4	Avermelhado	Espalhado	Grossos	Oblonga	Verde-amarelada	Arredondada	Obtusa
Vita 5	Avermelhado	Espalhado	Grossos	Obovada	Verde-amarelada	Arredondada	Obtusa

CC = Cor do caule (1-Verde; 2-Verde-amarelo; 3-Avermelhado; 4-Vermelho-escuro); FR = Formato dos ramos (1-Ereto; 2-Espalhado; 3-Inclinado); DC = Diâmetro do caule (1-Finos; 2- Médios; 3-Grossos); FF = Formato das folhas (1-Arredondada; 2-Ovalada; 3-Obovada; 4-Lanceolada; 5-Obtusa; 6-Oblonga); CF = Coloração das folhas (1- Verde-amarelada; 2-Verde-acinzentado; 3-Verde; 4-Verde escuro; 5-avermelhada); FBF = Formato da base das folhas (1-Obtusa; 2-Arredondada; 3- Cordata) e FAF = Forma do ápice das folhas (1-Acuminada; 2-Apiculada; 3-Aguda; 4-Obtusa; 5-Arredondada).

As variedades Kumagai e Sassaoka possuem ramos inclinados, o mesmo tipo apresentado pelo acesso ‘Folha Fina’. As variedades Cortibel, Paluma e Século XXI possuem ramos do tipo espalhados, assim como os acessos ‘Roxa’, ‘Grande’, Acesso 1, Acesso 8, ‘Vita 4’ e ‘Vita 5’. Estes resultados semelhantes entre as cultivares Paluma e Século XXI quanto ao formato dos ramos estão de acordo com a genealogia destes materiais, visto que a cultivar Século XXI foi obtida, utilizando-se como parental a variedade Paluma (PEREIRA et al., 2003). Estes autores relatam ainda que a cultivar Século XXI possui ramificações de crescimento predominantemente horizontal, o que está de acordo com os resultados apresentados neste experimento.

Com relação ao diâmetro do caule (Tabela 2), as cultivares mostraram-se com caules de médios a grossos. Quanto aos acessos, quando os mesmos foram comparados com as variedades avaliadas, apenas os materiais: ‘Precoce’, ‘Grande’, ‘Milho’, ‘Folha Fina’ e Acesso 1 apresentaram caules com diâmetros finos, os demais acessos, obtiveram resultados semelhantes às cultivares. Considerando-se o formato da folha, apenas as variedades Kumagai e Sassaoka foram semelhantes, apresentando folhas do tipo obovada (Tabela 2). Esta semelhança entre estas cultivares deve-se apenas à influência do ambiente, pois os resultados apresentados neste experimento demonstram que estes materiais

encontram-se em grupos diferentes (Tabela 1). Segundo Souza Júnior et al. (2002), a goiabeira é muito influenciada pela interação do genótipo com o ambiente, que é um fator primordial para a manifestação fenotípica.

Quanto aos acessos avaliados, cada um possui um formato de folha peculiar, não existindo um padrão para esse descritor entre os mesmos. Considerando-se a coloração das folhas, de um modo geral, há uma predominância da coloração verde-amarelada entre os acessos e verde entre as variedades.

Com relação ao formato da base das folhas, entre as variedades predominou o formato do tipo cordata, e entre os acessos, o formato tipo arredondado. Quanto ao formato do ápice das folhas entre os materiais avaliados, de um modo geral, a maioria possui um formato do tipo apiculada.

Os dados da Tabela 3 representam a análise de agrupamento pelo método de otimização de Tocher, utilizando-se os descritores morfológicos, sendo as análises baseadas na distância proposta por Cole-Rodgers. Os resultados possibilitaram a formação de seis grupos, sendo que as variedades Paluma e Kumagai mostraram-se semelhantes ao Acesso 1. As variedades Cortibel e Pedro Sato, além do acesso ‘Folha Fina’, ficaram agrupadas sozinhas em um grupo cada, demonstrando, assim, que as mesmas possuem caracteres morfológicos distintos das demais. A cultivar Sassaoka ficou agrupada com a

maioria dos acessos, o que demonstra que os mesmos possuem certa similaridade genética com esta cultivar.

Observou-se que os descritores morfológicos foram menos efetivos para a quantificação da variabilidade dos materiais (Tabela 3), o que pode ser constatado ao compará-los com os dados moleculares, os quais promoveram a formação de 12 grupos, enquanto os morfológicos subdividiram os materiais em apenas seis grupos.

**Tabela 3.** Agrupamento das seis variedades e de 19 acessos de goiabeiras, pelo método de Tocher, utilizando-se o coeficiente de dissimilaridade proposto por Cole-Rodgers.

Grupos	Materiais						
I	Sassaoka	'Roxa'	Acesso 2	Acesso 3	Acesso 4	Acesso 5	Acesso 6
	Acesso 7	'Vita 1'	'Vita 2'	'Vita 3'	'Vita 4'	'Vita 5'	'Vita 1'
	'Grande'	'Milho'	'Branca'				
II	Paluma	Kumagai	Acesso 1				
III	Século XXI	Acesso 8					
IV	Cortibel						
V	'Folha Fina'						
VI	Pedro Sato						

## Conclusão

A técnica de marcadores RAPD associados com as características morfológicas foi eficaz para se investigar a diversidade entre os acessos de goiabeiras, indicando que a população estudada possui ampla variabilidade genética.

Os iniciadores OPA 03, OPA 05, OPA 10, OPA 12 e OPC 19 são indicados para estudos de diversidade em goiabeiras, utilizando-se o marcador do tipo RAPD, já que apresentaram entre seis e oito marcas polimórficas.

Os resultados indicaram que os materiais: Acesso 1, Acesso 6, Acesso 8, 'Vita 2', 'Vita 3', 'Vita 5', 'Branca', 'Milho' e 'Folha Fina' foram divergentes quando comparados às variedades. A partir desses dados, sugere-se que estes materiais possuem potencial para a utilização em programa de melhoramento da espécie. Entretanto, os mesmos necessitam de análises pós-colheita para que sejam verificados os seus atributos de qualidade.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao Viveiro Itamudas pelo apoio técnico e logístico, à Faperj e ao CNPq pelo apoio financeiro.

## Referências

ALVES, J. E.; FREITAS, B. M. Requerimentos de polinização da goiabeira. **Ciência Rural**, v. 37, n. 5, p. 1281-1286, 2007.

AMBIEL, A. C.; GUABERTO, L. M.; VANDERLEI, T. M.; MACHADO NETO, N. B. Agrupamento de acessos e cultivares de três espécies de *Brachiaria* por

RAPD. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 4, p. 457-464, 2008.

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.

AZZOLINI, M.; JACOMINO, A. P.; BRON, I. U. Índices para avaliar qualidade pós-colheita de goiabas em diferentes estádios de maturação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 2, p. 139-145, 2004.

BARROS, A. M.; FALEIRO, F. G.; KARIA, C. T.; SHIRATSUCHI, L. S.; 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.

COLE-RODGERS, P.; SMITH, D. W.; BOSLAND, P. W. A novel statistical approach to analyze genetic resource evaluations using *Capsicum* as an example. **Crop Science**, v. 37, n. 3, p. 1000-1002, 1997.

COSTA, A. F. S.; PACOVA, B. E. V. Botânica e variedades. In: COSTA, A. F. S.; COSTA, A. N. (Ed.). **Tecnologias para produção de goiaba**. Vitória: Incaper, 2003. p. 27-56.

CRUZ, C. D. **Programa Genes**: análise multivariada e simulação. Viçosa: UFV, 2006.

DIAS, L. A. S.; KAGEYAMA, P. V. Variação genética em espécies arbóreas e conseqüências para o melhoramento florestal. **Agrotópica**, v. 3, n. 1, p. 119-127, 1991.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, n. 1, p. 13-15, 1990.

IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 20 jun. 2008.

LIMA, M. A. C.; ASSIS, J. S.; NETO, L. G. Caracterização dos frutos de goiabeiras e seleção de cultivares na região do submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 273-276, 2002.

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.

PEREIRA, F. M.; CARVALHO, C. A.; NACHTIGAL, J. C. Século XXI: nova cultivar de goiaba de dupla finalidade. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 498-500, 2003.

ROHLF, F. J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system**. Port Jefferson: Applied Biostatistics, 2000.

SALLA, M. F. S.; RUAS, C. F.; RUAS, P. M.; PÍPOLO, V. C. Uso de marcadores moleculares na análise da variabilidade genética em acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 15-22, 2002.

- SAMSON, J. A. **Tropical fruits**. 2nd ed. New York: Longman Press, 1986. (Tropical agricultural series).
- SANTOS, R. R.; MARTINS, F. P.; RIBEIRO, I. J. A.; NASCIMENTO, L. M.; IGUE, T. Avaliação de variedades de goiabeira em Monte Alegre do Sul (SP). **Bragantia**, v. 57, n. 1, p. 117-126, 1998.
- SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxonomy**, v. 11, n. 1, p. 33-40, 1962.
- SOUZA, C. M. P.; VIANA, A. P.; FERREIRA, C. F.; SILVA, S. O.; CARVALHO, A. J. C.; BERBERT, P. A.; SOUSA, E. F. Avaliação da dissimilaridade genética em genótipos de bananeira (*Musa* spp.) via marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 419-424, 2008.
- SOUZA JÚNIOR, E. E.; DUARTE, J. B.; CHAVES, L. J. Estabilidade fenotípica em goiabeira (*Psidium guajava*, L.) com ênfase em peso de fruto, precocidade e período de colheita. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 32, n. 2, p. 97-103, 2002.
- UPOV-The international union for the protection of new varieties of plants. **Guidelines for the conduct of tests for distinctness, homogeneity and stability**: Guava (*Psidium guajava* L.). Geneva, 1987.
- VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; SOUZA, M. M.; MALDONADO, J. F. M. Diversidade genética entre genótipos comerciais de maracujazeiro-amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de passifloras nativas determinada por marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 489-493, 2005.
- VILELA, F. O.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; PEREIRA, M. G.; SCAPIM, C. A.; VIANA, A. P.; FREITAS JÚNIOR, S. P. Effect of recurrent selection on the genetic variability of the UNB-2U popcorn population using RAPD markers. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 1, p. 25-30, 2008.
- 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.

Received on August 7, 2008.

Accepted on February 3, 2009.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.