

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE AGRONOMIA
MELHORAMENTO GENÉTICO DE PLANTAS**

**POTENCIALIDADE DE GENÓTIPOS DE ACEROLEIRAS (*Malpighia
emarginata* D.C.) QUANTO AO ENRAIZAMENTO E RESISTÊNCIA A
NEMATÓIDE VISANDO A OBTENÇÃO DE PORTA-ENXERTO**

Jackeline Gadé De Araujo Rossiter

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação de Agronomia em
Melhoramento Genético de Plantas da
Universidade Federal Rural de
Pernambuco, para obtenção do grau de
Mestre.**

**Orientadora: Rosimar dos Santos Musser, Dra.
Co-orientadora: Luiza Suely Semen Martins, Dra.
Elvira Maria Regis Pedrosa, Dra.**

**Recife - PE
Agosto de 2007**

Ficha catalográfica

R831p Rossiter, J. G. A.
Potencialidade de genótipos de aceroleiras (*Malpighia emarginata* D. C.) quanto ao enraizamento e resistência a nematóide visando a obtenção de porta-enxerto / Jackeline Gadé de Araújo Rossiter. -- 2007.
76 f.

Orientadora : Rosimar dos Santos Musser
Dissertação (Mestrado em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas) -- Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Agronomia.
Inclui anexo bibliografia.

CDD 631.53

1. Propagação
 2. *Malpighia emarginata*
 3. Estaquia
 4. Porta-enxerto
 5. Nematóide
 6. Isoenzimas
- I. Musser, Rosimar dos Santos
II. Título

POTENCIALIDADE DE GENÓTIPOS DE ACEROLEIRAS (*Malpighia emarginata* D.C.) QUANTO AO ENRAIZAMENTO E RESISTÊNCIA A NEMATÓIDE VISANDO A OBTENÇÃO DE PORTA-ENXERTO

Jackeline Gadé de Araujo Rossiter

Dissertação defendida e aprovada pela banca examinadora em: ____/____/____

Orientadora: _____

Dra. Rosimar dos Santos Musser
Área de Fitotecnia/ Agronomia/ UFRPE

Examinadores: _____

Dra. Luiza Suely Semen Martins
Área de Genética/ Biologia/ UFRPE

Dra. Uided Maaze Tiburcio Cavalcante
Departamento de Micologia/ CCB / UFPE

Dra. Vivian Loges
Área de Fitotecnia/ Agronomia/ UFRPE

Dr. Clodoaldo José da Anunciação Filho
Área de Fitotecnia/ Agronomia/ UFRPE

Recife - PE
Agosto de 2007

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida.

A meu pai José Lopes de Araujo, minha mãe Gêrda Maria Gadé de Araujo, meus irmãos Flávia, Simone e Germano e em especial ao meu marido Márcio Regueira Rossiter, pelo incentivo e paciência no percurso deste ideal.

À Rosimar dos Santos Musser pela orientação, dedicação, amizade e companheirismo como minha orientadora.

As minhas co-orientadoras Prof^a Luiza Suely Semen Martins e Prof^a Elvira Maria Regis Pedrosa que muito me ensinaram neste percurso.

Ao Prof^o Francisco José de Oliveira coordenador da Pós-graduação em Melhoramento Genético Plantas, pela amizade e dedicação a este programa e aos mestrandos.

A CAPES, pelo fornecimento da bolsa de estudo.

Aos Professores do PPGAMGP, pela orientação, incentivo e apoio para realização deste trabalho.

Aos colegas do mestrado Clebia Almeida, Deivid Coite, Lidinalva Resende, Liliane Mélo, Marcelo Souza, Mario Moraes, Roberto Melo, Silvokleio Silva, Valbam Carvalho e Daniel Amaral pelo companheirismo, incentivo e apoio para realização deste trabalho.

Aos amigos Roberto Melo, Jeane Medeiros e Gabriela Ferraz pelo incentivo, orientação e ajuda na execução dos experimentos.

Ao pesquisador da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Venézio Felipe dos Santos pela valiosa colaboração e execução das análises estatísticas.

Ao pesquisador da EMBRAPA – Semi Árido, Welligton Antônio Moreira e sua estagiária Mina, pela valiosa colaboração na obtenção de ovos de nematóide.

Ao Engenheiro agrônomo e amigo Roberto Vicente Gomes, da Secretaria de Agricultura do Ipojuca, pela valiosa colaboração com sugestões no planejamento da dissertação.

Aos Departamentos de Biologia e de Fitossanidade da UFRPE pela oportunidade de realizar as análises isoenzimáticas e as avaliações de fitonematóides em seus laboratórios.

Aos estagiários da área de fruticultura e fitossanidade do Curso de Agronomia em especial, Aroldo Campos, José Carlos da Costa, Fernando Aguiar, Rafael Leal, Kátia Barros, Thiciano Miranda, Roberto Brito e Elcides da Silva pela amizade e colaboração.

Ao funcionário José Leonildo dos Santos (Carpina), pela ajuda na execução do experimento.

E a todos aqueles, que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho, direta ou indiretamente, minha eterna gratidão.

RESUMO

A aceroleira é uma planta originária da região das Antilhas, cujo os frutos apresentam um alto teor de ácido ascórbico (Vitamina C), que em cada 100g de suco da acerola pode conter até 4.000mg desta vitamina. Esta fruta também contém pró-vitamina A, do complexo B e minerais como, cálcio, ferro e fósforo. A propagação da aceroleira pode ser realizada através de sementes, tendo como inconveniente a desuniformidade do pomar. Outra maneira de se obter mudas é através da estaquia e enxertia. O método mais importante de propagação da aceroleira é a estaquia, pois confere uma uniformidade no plantio. O trabalho teve como objetivo selecionar do Banco Ativo de Germoplasma da UFRPE, através da estaquia, plantas que tivessem bom enraizamento e resistência a infecção por nematóide das galhas *Meloidogyne incognita* raça 2. A pesquisa foi realizada, utilizando-se 18 genótipos, durante dois períodos, 58 e 111 dias após o plantio das estacas em substrato para avaliar performance quanto ao enraizamento, presença;ausência de calo e índice de mortalidade. Posteriormente estas estacas foram transferidas para sacos de polietileno, com capacidade de 2 kg, em substrato esterilizado para avaliar a infecção, e posterior avaliação da biomassa fresca relativa da parte aérea e do sistema radicular, índice de galhas, índice de massa de ovos, ovos por sistema radicular e ovos por grama de raiz. Das mudas foram retiradas folhas com 20, 40 e 60 dias após o solo ser infestado com os ovos do *M. incognita*. Com este material foi realizada a eletroforese de isoenzimas, onde a expressão das bandas, através dos sistemas de α -esterase, fosfatase ácida e peroxidase, permitiram identificar a relação de tolerância e resistência ao *M. incognita*. Constatou-se diferenças significativas entre os 18 genótipos analisados com relação a susceptibilidade ao nematóide. O genótipo 002-SPE apresentou melhor percentual para o parâmetro enraizamento, nos períodos avaliados, no qual, no ano de 2006 obteve-se melhor resultado. O genótipo 027-CMF foi o mais susceptível e o genótipo 023-CMF apresentou-se superior aos demais, comportando-se como menos susceptível a *M. incognita*. A revelação de bandas nos géis de poliacrilamida permitiu identificar regiões de bandas que relacionadas com a reação do genótipo na presença do patógeno. Com esta avaliação foi possível gerar um dendograma separando os 18 genótipos em dois grandes grupos. Através da matriz identificou-se o grau de similaridade entre os genótipos estudados. A grande variabilidade genética da aceroleira possibilita trabalhos de melhoramento com grandes chances de êxito.

ABSTRACT

The Barbados cherry is a plant from the region of the Antilhas. The fruits present high content of ascorbic acid (Vitamin C) so that 100g of Barbados cherry juice can contain until 4,000mg of this vitamin. This fruit also contains pro-vitamin A, of the complex B and minerals as calcium, iron and phosphorus. The propagation of the Barbados cherry can be carried through through seeds, having as inconvenient the non uniformity of the orchard. Another way of getting seedlings would be through the grafting and cuttings. The method most important of propagation is the cuttings that confer uniformity in the plantation. The work had as objective to select of the Active Bank of Germoplasma of the UFRPE, through the cuttings, plants with good root growing and resistance to the infection by the root knot nematode *Meloidogyne incognita* race 2. The research was carried out, using 18 genotypes, during two periods, 58 and 111 days after the plantation of the cuttings in substratum to evaluate percentage of root development callus, alive plants and dead plants. The cuttings were transferred to polyethylene bags, with capacity of 2kg, in sterilized substratum to evaluate the infection, and the fresh relative biomass of the shoots and root system, gall index, egg mass index, eggs for root system and eggs for gram of root. It was taken out leaves of the plants at 20, 40 and 60 days after soil infestation with eggs of *M. incognita*. With this material it was carried out electrophoreses of isoenzymes where the bands expression, through the systems of α -esterase, fosfatase acid and peroxidase allowed to identify the relation of tolerance and resistance to *M. incognita*. There was significant difference among the 18 genotypes analyzed with regard to susceptibility to the nematode. The genotype 002-SPE presented the better percentage of root development, in the evaluated periods, which in the year of 2006 got the best result. The genotype 027-CMF was the most susceptible in contrast to the genotype 023-CMF superior to the other being less susceptible to *M. incognita*. The revelation of bands in the polyacrylamide gel allowed to identify regions of bands who related with the reaction of the genotype presence the pathogen. With this evaluation it was possible to generate a dendogram separating the 18 genotypes in two main groups. According to the matrix it was identified the degree of similarity among the genotypes. The high genetic variability of the genotypes increases success chances in improving barbados cherry for resistance to *M. incognita*.

SUMÁRIO

Orientadora:.....	3
INTRODUÇÃO.....	8
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	9
2.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A ACEROLEIRA.....	9
2.2. PROPAGAÇÃO.....	10
2.3. MELOIDOGINOSE.....	11
2.4. MELHORAMENTO GENÉTICO DA ACEROLEIRA.....	14
2.4.1. MARCADORES MOLECULARES - ISOENZIMAS.....	15
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18
GOMES, E. W. F.; WILLADINO, L.; MARTINS, L, S. S.; SILVA, S. O.; CÂMARA, T. R. DIPLÓIDES (AA) DE BANANEIRA SUBMETIDOS AO ESTRESSE SALINO. PESQUISA AGROPECUÁRIA BRASILEIRA, BRASÍLIA, V. 39, P. 525-531, 2004.....	22
4. TRABALHOS.....	28
RESUMO.....	30
ABSTRACT.....	30
INTRODUÇÃO.....	31
MATERIAL E MÉTODOS.....	33
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
CONCLUSÕES.....	37
AGRADECIMENTOS.....	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
4.2. SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE ACEROLEIRA ASSISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES VISANDO RESISTÊNCIA A MELOIDOGYNE INCOGNITA RAÇA 2.....	44
RESUMO.....	45
ABSTRACT.....	46
PARA O SISTEMA A-ESTERASE (FIGURA 1), FORAM OBSERVADOS O MÁXIMO DE CINCO REGIÕES DE BANDAS ANÓDICAS, DESIGNADAS A-EST-1, A-EST-2, A-EST-3, A-EST-4 E A-EST-5. NOS GENÓTIPOS 001-SPE, 002-SPE E 003-APE FORAM REVELADAS AS REGIÕES A-EST-3 E A-EST-4 EM TODOS OS TRATAMENTOS, VARIANDO APENAS NA INTENSIDADE DAS MESMAS AOS 40 DIAS APÓS A INFECÇÃO, AS QUAIS APRESENTARAM-SE MAIS INTENSAS.....	52
AOS 40 DIAS DE EXPOSIÇÃO AO SOLO INFESTADO NOS GENÓTIPOS 001-SPE, 002-SPE, 007-TPA, 023-CMF, 035-CMF E 041-CMF FORAM REVELADAS AS BANDAS PO1 E PO2, NOS GENÓTIPOS 005-APE, 015-CPA E A MATRIZ-PPE IDENTIFICOU-SE A BANDA PO2 E NOS DEMAIS A BANDA PO1. SESSENTA DIAS DE EXPOSIÇÃO A PRESENÇA DO PATÓGENO LEVOU A ATIVAÇÃO DAS BANDAS PO1 E PO2 NOS GENÓTIPOS 001-SPE, 007-TPA E 035-CMF, ENQUANTO NOS GENÓTIPOS 002-SPE, 005-APE E 015-CPA SOMENTE A BANDA PO2 FOI DETECTADA E NOS DEMAIS GENÓTIPOS APENAS A BANDA PO1.....	53
GOMES, E. W. F.; WILLADINO, L.; MARTINS, L, S. S.; SILVA, S. O.; CÂMARA, T. R. DIPLÓIDES (AA) DE BANANEIRA SUBMETIDOS AO ESTRESSE SALINO. PESQUISA AGROPECUÁRIA BRASILEIRA, BRASÍLIA, V. 39, P. 525-531, 2004.....	56

HEMINGWAY, J.; KARUNARATNE, S. H. P. P. MOSQUITO CARBOXYLESTERASES: A REVIEW F THE MOLECULAR BIOLOGY AND BIOCHEMISTRY OF A MAJOR INSECTICIDE RESISTANCE MECHANISM. MEDICAL AND VETERINARY ENTOMOLOGY, V. 12, P. 1-12, 1998.....	56
31,42.....	59
6. ANEXOS.....	65

INTRODUÇÃO

A fruticultura representa papel relevante na economia nacional. O Brasil é um dos três maiores produtores mundiais de frutas (cerca de 39 milhões de toneladas por ano), exportando pouco mais de 1% da sua produção *in natura*, ocupando o 20º lugar entre os países exportadores, segundo dados do Ministério da Agricultura (AGRIANUAL, 2002).

Outro aspecto de grande relevância na fruticultura é sua importância social, visto que se trata de cultivo extensivo e intensivo, exige a presença constante do agricultor e requer mão-de-obra em grande escala. Além de ser fator de fixação do homem no campo, eleva o seu padrão de vida, cuja função se estende além dos campos, pela integração de mão-de-obra na comercialização, distribuição, venda e industrialização dos produtos (SIMÃO, 1998).

O interesse dos produtores e do mercado consumidor da cultura de acerola surgiu em razão do alto teor de vitaminas e compostos benéficos do fruto, como antioxidantes, detectados na década de 40 por Asenjo, (1959). Os carotenóides presentes na acerola podem fornecer 720 a 4.540 unidades internacionais de vitamina A por 100 gramas de fruto, enquanto a concentração de vitamina C pode variar entre 1.325 e 2.250 mg por 100 mL de suco (GONZAGA NETO e SOARES, 1994; ASSIS; LIMA; OLIVEIRA, 2001).

No Brasil, foi introduzida oficialmente, em 1955, na região Nordeste, através da Universidade Federal Rural de Pernambuco, com sementes trazidas de Porto Rico (SIMÃO, 1998), no entanto, Andrade et al. (1995) relata que o cultivo da acerola adquiriu escala comercial somente na década de 80, sendo pioneiros os Estados da Bahia e do Pará, que visavam à exportação da acerola para a Europa e Japão.

No cultivo da aceroleira no Brasil existe grande desuniformidade dos pomares, pois as áreas estabelecidas utilizaram mudas provenientes de sementes (JUNQUEIRA et al., 2002). A propagação por via sexual apresenta como inconveniente a segregação hereditária (MARTINS; NOGUEIRA; MATTOS, 2000), além de um baixo poder germinativo que varia em torno de 15% a 30% (AZERÊDO et al., 2006).

A estaquia é um dos métodos mais importantes no processo de propagação vegetativa e destaca-se por promover a multiplicação de plantas matrizes selecionadas, mantendo as

características desejáveis da mesma (MELETTI, 2000). Por este método de propagação se obtém plantas com maior estabilidade genética proporcionando pomares mais uniformes, mais produtivos e frutos mais homogêneos (OLIVEIRA et al., 2002).

Os programas de melhoramento da aceroleira têm voltado suas atenções também para porta-enxertos com resistência a pragas e doenças (MANICA et al., 2003), que estão se tornando fatores limitantes para a cultura na região Nordeste, principalmente, em relação ao nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.) (INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES, 1986). A infecção destes nematóides prejudica a absorção de água e nutrientes, gerando sintomas de enfraquecimento na parte aérea e sistema radicular (CHOUDHURY; CHOUDHURY, 1992).

O objetivo deste trabalho foi indicar genótipos de aceroleiras promissores quanto a capacidade de enraizamento e resistência ao nematóide das galhas *M. incognita*, para utilização como porta-enxerto na produção de mudas, adaptados a Zona da Mata, assim como correlacionar genes de resistência ao nematóide, através de marcadores moleculares.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Considerações gerais sobre a aceroleira

A aceroleira é uma planta típica de países de clima tropical, com seu centro de origem na região das Antilhas, Norte da América do Sul e América Central. A aceroleira foi classificada por Linnaeus em 1753, como *Malpighia glabra*. Poucos anos depois, em 1762, o mesmo botânico deu o nome de *Malpighia puniceifolia* a uma espécie similar ou idêntica (ARGLES, 1976). A aceroleira pertence à classe das Angiospermae, subclasse Dicotyledonae, ordem Geraniales, família Malpighiaceae, gênero *Malpighia* e espécie *Malpighia emarginata* D. C., (International Board Plant For Genetic Resources, 1986).

O interesse dos produtores e do mercado consumidor da cultura de acerola surgiu devido ao teor de vitamina C (ácido ascórbico), que chega até 4.000 mg por 100 gramas de polpa, que foi detectado pelo Professor Conrado Asenjo, diretor do Instituto de Bioquímica da Escola de Medicina Tropical da Universidade de Porto Rico em 1946, quando pesquisava a composição de frutas nativas daquele país (ASENJO; GUZMAN, 1946). Seus frutos possuem uma fonte razoável de pró-vitamina A e vitaminas do complexo B, como tiamina (B1), riboflavina (B2) e niacina (B3), e minerais como cálcio, ferro e fósforo, embora os teores sejam baixos (RITZINGER; RITZINGER, 2005).

2.2. Propagação

A aceroleira é uma planta considerada de propagação simples, podendo ser multiplicada por sementes, estaquia e enxertia (MARTY; PENNOCK, 1965; AMARAL, 1992; BEZERRA et al., 1992). O fato da aceroleira ser uma planta autofértil, permite obter plantas praticamente idênticas com a utilização da propagação por meio de sementes (SIMÃO, 1998), nos plantios em grande escala, essa modalidade de propagação só deve ser adotada se as sementes provierem de frutos colhidos em áreas formadas com plantas uniformes, portadoras das melhores características produtivas e comerciais, pois desse modo reduz o risco da geração de matrizes geneticamente indesejáveis (MANICA et al., 2003).

O domínio do método de propagação é fundamental, tanto para o melhorista, como para o agricultor e a indústria, por assegurar a formação de plantios de aceroleiras uniformes e de qualidade (GOMES et al., 2000). Dentre os métodos clássicos de propagação vegetativa, destaca-se a estaquia, contudo sua viabilidade na fruticultura está condicionada à facilidade de enraizamento de cada espécie ou cultivar (GONDIM et al., 2001) e à capacidade de desenvolvimento do sistema radicular (HARTMAN et al., 1997), que são duas características fundamentais para o posterior desenvolvimento da planta na área de produção.

Meletti (2000) destaca a estaquia como o método mais importante no processo de propagação vegetativa, por promover a multiplicação de plantas matrizes selecionadas, mantendo as características desejáveis da mesma. Com a estaquia obtêm-se plantas com maior estabilidade genética, pomares mais uniformes, mais produtivos e frutos mais homogêneos (OLIVEIRA et al., 2002). Além dessas vantagens, Musser (2001) relaciona a produção precoce, simplicidade e rapidez na produção de mudas como características importantes. No entanto, existem espécies que apresentam estacas com facilidade em emitir raízes adventícias, outras as emitem regularmente e algumas com dificuldade no enraizamento (TOFANELLI, 1999), além de depender de uma série de fatores, como: potencial genético, condição fisiológica, nutricional e idade da planta matriz, época de coleta e tipo de estacas, entre outros (SCARPARE FILHO et al., 1999).

De acordo com Costa Junior (2000), a presença de folhas no enraizamento de estacas influencia no processo de formação radicular, auxiliando no transporte de substâncias promotoras de enraizamento, porém promovendo a perda de água por transpiração. Ainda,

segundo o mesmo autor, estes fatores de influência devem ser mais bem estudados, pois sua interação interfere significativamente no processo de propagação vegetativa.

O material propagativo usado na estaquia deve ser coletado a partir de matrizes pré-selecionadas, comprovadamente produtivas e livres de pragas e doenças. As estacas com folhas devem ser túrgidas, e plantadas de imediato, acarretando maior percentual de enraizamento (MUSSEY, 2001). Diversos trabalhos comprovam a viabilidade da propagação assexuada de fruteiras mediante o enraizamento de estaca a exemplo de caramboleira (BASTOS et al., 2005), aceroleira (LIMA et al., 2006), maracujazeiro (BRAGA et al., 2006) e marmeleiro (PIO et al., 2004).

Pesquisas realizadas por Nascimento (1991) em casa de vegetação, utilizando estacas semilenhosas de aceroleira com folhas, medindo 15 a 20 cm de comprimento e 3 a 6 mm de diâmetro, coletadas antes da floração e plantadas em substrato de areia, possibilitaram um enraizamento da ordem de 50% quando se utilizou o ácido indolbutírico em pó na concentração de 6.000 ppm. Estudos feitos pela Universidade Federal de Areias na Paraíba, nos quais se utilizaram estacas com 20 cm de comprimento e diâmetros entre 4 e 8 mm, plantadas sem folhas e em substrato de areia, houve o enraizamento de 45% das estacas quando se utilizou o ácido indolbutírico na concentração de 2.400 ppm (ALVES et al., 1991). Utilizando a mesma técnica, Musser (2001) encontrou valores que variam entre 0 e 92% de enraizamento, em estacas semilenhosas de 16 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Aceroleiras sem uso de fitohormônio. Já estudos realizados por Gomes et al., (2000), nos quais utilizaram estacas herbáceas com 10 a 12 cm de comprimento, plantadas em vermiculita, verificaram variação nos índices de enraizamento chegando a 96% de acordo com época do ano.

2.3. Meloidoginose

Em levantamentos realizados em áreas produtoras no Brasil, foi identificado, como principal problema da aceroleira, os nematóides do gênero *Meloidogyne*, já tendo sido identificadas as espécies *M. incognita* raças 1, 2, 3 e 4, *M. javanica* e *M. arenaria* raça 2 (FERRAZ; MONTEIRO; INOMOTO, 1989).

Os nematóides do gênero *Meloidogyne* são tidos como os mais importantes na agricultura por possuírem uma ampla distribuição geográfica, apresentarem uma grande gama de hospedeiros, incluindo mais de 2000 espécies de plantas, dentre elas, diversas culturas de importância econômica e ervas daninhas, e por causar grandes danos às culturas chegando a ser

fator limitante de cultivo, como no caso do caupi (PIO-RIBEIRO; ASSIS FILHO, 1997) e da figueira (GALLETI; REZENDE, 2005).

Os nematóides do gênero *Meloidogyne* apresentam machos e fêmeas facilmente distinguíveis morfologicamente (dimorfismo sexual). Os machos são vermiformes e medem de 1,2 a 1,5 mm de comprimento por 30 a 36 µm de diâmetro; as fêmeas, apresentam formato piriforme quando adultas e chegam a medir 0,40 a 1,3 mm de comprimento por 0,21 a 0,75 mm de diâmetro (CARES et al., 2006).

Em 1855, Berkeley classificou o nematóide das galhas como sendo *Heterodera radiculicola*. Jebert, em 1877 associou a presença de galhas em raízes de cafeeiro ao declínio da cultura no Rio de Janeiro e Goeldi em 1887, classificou o nematóide das galhas como sendo *Meloidogyne exigua*. Esta foi a primeira vez que o nematóide das galhas foi chamado de *Meloidogyne*, mas esse gênero não foi imediatamente aceito pela comunidade científica (FREITAS et al., 2001). Em 1949, o pesquisador Chitwood fez uma revisão completa e classificou as quatro principais espécies de *Meloidogyne* sp. (*M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla*), separando-as pelas marcas cuticulares na região perineal. A partir daí, os nematóides das galhas foram conhecidos mundialmente como gênero *Meloidogyne*. Desde então, mais de 80 espécies de *Meloidogyne* já foram descritas (MOURA, 2005).

A partir de 1970, a bioquímica passou constituir uma das mais importantes ferramentas taxonômicas até a atualidade, gerando a denominação taxonomia bioquímica ou moderna taxonomia. Nesse contexto, a eletroforese de isoenzimas tem sido imprescindível, pois compara espécies por suas diferentes enzimas com a mesma atividade biológica. Como vantagens, a técnica mostrou ser relativamente rápida, de fácil interpretação e sensível na detecção de misturas de espécies, situação muito freqüente em condições de campo no Brasil (GOTTLIEB, 1982).

As espécies de *Meloidogyne* possuem raças distintas que não podem ser diferenciadas morfologicamente, sendo necessário reproduzir a população em plantas hospedeiras diferenciadoras (FREITAS et al., 1999). Carneiro et al. (2003) identificaram uma nova raça de *M. javanica* (raça 4), que foi detectada pela primeira vez no Brasil, em Londrina, causando danos ao amendoim bravo (*Arachis pintoi*) em campo. A identificação foi baseada em fenótipos de esterase e configuração da região perineal. Em seguida, *M. javanica* (raça 4) foi submetido ao teste de plantas hospedeiras diferenciadoras. Os resultados mostraram que a reação de hospedeiros diferenciadores de *M. javanica* (raça 4) nunca havia sido observada no Brasil ou no exterior.

A Taxonomia Clássica ou Morfológica permanece até hoje e sempre existirá como primeira ferramenta nas identificações, enquanto a Bioquímica e Citologia virão sempre de apoio. O conjunto dessas novas ciências foi genericamente denominada Taxonomia Nematologica Moderna (MOURA, 2005).

Os sintomas mais característicos do parasitismo por nematóides do gênero *Meloidogyne* aparecem nas partes subterrâneas das plantas, como nas raízes e nos tubérculos. As raízes infectadas engrossam no ponto de penetração do juvenil, originando as galhas típicas que são duas a três vezes mais grossas do que as partes não infectadas da raiz. Essas galhas não só privam as plantas de nutrientes, como também desfiguram e reduzem o valor comercial das culturas como batata, cenoura e cará-da-costa. Quando tubérculos ou outros órgãos comestíveis são infectados, eles apresentam protuberâncias em sua superfície, podendo se tornar proeminentes em alguns casos, causando deformidades e rachaduras na casca do órgão, induzindo significativas reduções na produtividade e no valor unitário de tubérculos (MOURA, 1997).

Os sintomas aéreos causados pelos nematóides das galhas são similares aos causados por outros patógenos, que reduzem a quantidade de água e nutrientes disponíveis para a planta. As plantas infectadas mostram crescimento reduzido, folhas pequenas e amareladas, que murcham prematuramente. Os frutos ficam pequenos e sua produção é reduzida ou mesmo interrompida (CHOUDHURY; CHOUDHURDY, 1992).

Os danos causados pelos nematóides das galhas podem ser mascarados por outros problemas de ordem fisiológica, a exemplo de deficiência nutricional e estresse hídrico, ou pela ocorrência de pragas e de outras doenças. Contudo, a diagnose pode ser realizada por meio de análise do solo e raízes (RITZINGER; RITZINGER, 2005).

O controle de fitonematóides é uma tarefa difícil devido a sua biologia e ao modo de dispersão. Desta forma, a utilização de técnicas de manejo é a única forma viável de reduzir as populações do parasita a níveis inferiores daqueles capazes de causar prejuízos. Sendo a prevenção da entrada do nematóide em áreas não infestadas e a prevenção da disseminação as principais medidas de controle (FREITAS et al., 1999).

Nos últimos cem anos, as práticas utilizadas para obter cultivos sadios têm se baseado em utilização de material de plantio sadio, isento de patógenos; uso de área isenta de patógenos, com adequada fertilização; alta qualidade de água para irrigação; utilização de práticas de manejo protetoras e preventivas, como introdução de variedades resistentes e pulverizações periódicas, impedindo o desenvolvimento de possíveis pragas (COOK, 2000).

Com o desenvolvimento e expansão da cultura da aceroleira no Brasil, a seleção de porta-enxertos tornou-se uma necessidade, pois deverão possuir resistência a patógenos habitantes de solo (FERRAZ; MONTEIRO; INOMOTO, 1989).

2.4. Melhoramento Genético da Aceroleira

O melhoramento genético das plantas envolve um conjunto de procedimentos, com fundamentação científica, cujo objetivo é a alteração de características dos genótipos, de modo que os novos materiais obtidos possibilitem aumento na produtividade e qualidade do produto final. Para isso, o trabalho pode ser dirigido para caracteres com adaptação a elevados teores de elementos tóxicos do solo, resistência a doenças e pragas, conformação da copa das plantas mais adequada à colheita, precocidade, mudanças no ciclo de frutificação e alterações na constituição física e química dos frutos, de modo que o resultado final seja a maior produtividade, lucratividade do investidor e a maior satisfação do consumidor (LOPES; PAIVA, 2002).

No Brasil, a primeira seleção de aceroleiras em relação aos nematóides foi a cultivar Oliver que surgiu a partir de uma planta localizada em um pomar implantado num solo altamente infestado por nematóides (*Meloidogyne incognita*), no município de Junqueirópolis (SP) em 1995. Em 1997 foi lançada pela Coordenadoria de Assistência Técnica Integral – Cati em Tietê (SP), a cultivar Waldy Cati 30 (CATI, 1997).

No Estado de Pernambuco, a Universidade Federal Rural de Pernambuco implantou em 1999 o Banco de Germoplasma com 42 acessos via estaquia, na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar do Carpina (EECAC/Carpina-PE) e tem caracterizado os mesmos, tanto para obtenção de copas como para porta-enxertos (MUSSER, 2001). Em Petrolina, a Embrapa Semi-Árido (CPATSA) vêm desenvolvendo programas de melhoramento de acerola. Foi estabelecida em 1992, uma coleção que conta atualmente com 42 acessos introduzidos por propagação sexuada e assexuada (GONZAGA NETO; MATTUZ; SANTOS, 1999). Desses acessos estudados já foi liberado a cultivar Sertaneja, indicada para áreas do Nordeste do Brasil (DONADIO, 2000).

No Paraná, em 1998, através da seleção massal em pomares comerciais do Norte do Estado, foram lançadas pela Universidade Estadual de Londrina (UEL), as cultivares Dominga (UEL-3), Ligia (UEL-4) e Natália (UEL-5), recomendadas para plantio no Norte do Paraná ou em regiões de clima semelhante (DONADIO, 2000).

No Ceará, a Embrapa Agroindústria Tropical iniciou estudos de melhoramento genético para a obtenção de clones de aceroleiras em 1996. O resultado desse trabalho permitiu o

lançamento de quatro cultivares para o plantio comercial no Estado: Apodi (BRS 235); Cereja (BRS 236); Roxinha (BRS 237) e Frutacor (BRS 238) (Paiva et al., 2003).

Na Bahia, a Embrapa Mandioca e Fruticultura tem realizado pesquisas com aceroleira desde 1994, através da coleta de plantas originárias, principalmente, de pomares comerciais das Regiões Norte, Nordeste e Sudeste do país e de introduções do Havai para a formação de um banco de germoplasma que, atualmente, conta com 154 acessos (OLIVEIRA et al., 1998). Foi desse BAG que pesquisadores, em 2002, lançaram a variedade "Cabocla", depois de um processo cuidadoso de avaliação de suas características destinadas tanto para o consumo *in natura*, quanto para a indústria de processamento (OLIVEIRA et al., 2002). Em 2004 foi lançada do mesmo BAG a variedade "Rubra", destinada a cultivos em áreas de Tabuleiros Costeiros no Estado (CUNHA, 2004).

2.4.1. Marcadores Moleculares - Isoenzimas

A era das novas biotecnologias teve início na década de 70 com o desenvolvimento de tecnologias como fusão de protoplastos, técnica do DNA recombinante, marcadores bioquímicos, entre outras, que, usando as mais variadas metodologias visam o emprego racional dos seres vivos, otimizando-os com finalidades econômicas ou sociais. Atualmente, as biotecnologias celulares e moleculares estão sendo rapidamente absorvidas pelos programas de melhoramento varietal (BRAMMER, 2000).

As isoenzimas têm sido amplamente empregadas como marcadores genéticos, e suas aplicações vão desde a genética de microrganismos até a genética humana. Apresentam-se como marcadores interessantes para o estudo genético por serem o produto primário dos genes estruturais. Mudanças na seqüência de bases codificadoras, na maioria dos casos, resultam em mudanças na estrutura primária da proteína correspondente (SCANDALIOS, 1979; SHIELDS; ORTON; STUBER, 1983).

Manica et al. (2003) comentam que a aceroleira, fruteira tipicamente tropical, vem apresentando boa adaptação a diversas regiões do Brasil e que, para a formação de novos plantios, é necessário dispor de genótipos selecionados que reúnam características favoráveis de alta produtividade e boa qualidade dos frutos. A Embrapa Agroindústria Tropical vem desenvolvendo um programa de melhoramento iniciado com a seleção de plantas no pomar da Empresa Fruta do Ceará S.A. (FRUCESA), no município de Jaguaruana (CE), no qual, pelo método de seleção massal, foram selecionadas 100 plantas matrizes das 41.600 plantas

existentes, utilizando critérios pré-estabelecidos tais como: tamanho do fruto, cor, textura, acidez, arquitetura da copa, ausência de pilosidade, germinação das sementes, entre outros.

Marcadores baseados em eletroforese de isoenzimas são úteis em programas de melhoramento, permitindo, a partir de fenótipos isoenzimáticos, a identificação já na fase de plântula, de genes que conferem resistência a doenças, bem como a caracterização do controle genético desses genes. Tais marcadores foram desenvolvidos nas décadas de 60-70 e tiveram grande aceitação pela comunidade científica, pois permitiram que muitas das dificuldades detectadas pelo uso dos marcadores morfológicos fossem resolvidas (BRAMMER, 2000).

O reconhecimento do patógeno e a subsequente expressão de resistência ou susceptibilidade ocorrem somente quando os genes de resistência e avirulência/virulência estão combinados especificamente nos organismos em interação, fazendo com que o desenvolvimento de doenças seja exceção e não regra. Este padrão de relacionamento tem sido observado na interação entre fungos, bactérias, vírus e nematóides em plantas hospedeiras (JAYNES et al., 1993).

As variações protéicas são de grande importância nos estudos genéticos como indicadores dos níveis de polimorfismo e relacionamento filogenético, bem como na identificação de raças, espécies e populações, representando, desse modo, uma valiosa ferramenta para estudos evolutivos e taxonômicos. Além disso, a diversidade alélica varia grandemente de loco para loco, sendo grande a variabilidade isoenzimática em organismos diplóides (KESSELI; MICHELMORE, 1986; FALCÃO; CONTEL, 1991).

A interação planta-patógeno envolve mecanismos bioquímicos de defesa da planta contra o patógeno, os quais são regidos por genes específicos (SBALCHEIRO, 2006). Estudos isoenzimáticos são utilizados em casos de estresse biótico ou abiótico, por estarem relacionados ao entendimento das mudanças metabólicas e mecanismos de defesa desencadeados nas plantas (TORGGLER; CONTEL; TORGGLER, 1995). Estas enzimas agem como armas químicas de defesa contra o ataque de patógenos, além de algumas catalizarem a formação de barreiras físicas na planta. Assim, o estudo da ativação enzimática é essencial para melhor compreender os mecanismos envolvidos na interação patógeno-hospedeiro.

Torggler, Contel e Torggler (1995) enfatizaram que em plantas, cujas características de valor adaptativo são, em sua maioria, controladas por muitos genes de pequeno efeito fenotípico, o estabelecimento da correspondência entre variação isoenzimática e variação fenotípica é difícil de ser compreendido claramente. Nos estudos de DNA, entretanto, essa relação estaria ainda mais distante, além de ser pouco conhecida em plantas. Desse modo, o papel das isoenzimas como marcadores genéticos seriam de valor indiscutível para as diversas áreas básicas de

pesquisa genética em plantas. Para o futuro, as isoenzimas apresentariam enorme potencial para serem usadas junto com marcadores moleculares (CLEGG; ALLARD; KAHLER, 1990), monitorando o mapeamento de características quantitativas (TANKSLEY; ORTON, 1983).

Numerosas aplicações da eletroforese de isoenzimas têm sido feitas. Entre algumas dessas, pode-se ressaltar a distinção entre variedades de interesse econômico, identificação do genoma das espécies, estudo das isoenzimas e suas relações com resistência ou suscetibilidade a doenças, os estudos de mapeamento genético em cultivares e seus parentes selvagens, a investigação das relações entre as espécies e a resolução da origem e natureza de poliplóides de muitos gêneros (BRAMMER, 2000).

A informação básica ao se visualizar os dados enzimáticos é a de que diferenças na mobilidade de isoenzimas, em um campo elétrico, são resultantes das seqüências de DNA que codificam essas enzimas. Em virtude das propriedades catalíticas das enzimas, as isoenzimas, especialmente, podem refletir o estado metabólico e diferenciado das células (SCANDALIOS, 1979).

Dentre as isoenzimas mais freqüentemente estudadas em plantas infectadas por fitonematóides podem ser citadas esterase, fosfatase ácida e peroxidase. A esterase é uma enzima envolvida em reações de hidrólise de ésteres, estando diretamente ligada ao metabolismo dos lipídios, como os fosfolipídios totais de membrana (SANTOS; MENEZES; VILELLA, 2005). Gomes et al. (2004) verificaram uma grande expressão de respostas de esterase em plantas de bananeira com estresse salino. Estudos realizados em citros revelaram expressão de esterase menor do que os obtidos com bananeira (OLIVEIRA; RADMANN, 2005).

A enzima fosfatase ácida tem função de hidrolisar os fosfomonoésteres de um grande número de reações químicas vegetais, entre elas, a formação de sacarose durante a fotossíntese (TANKSLEY, 1983). Rios et al. (2004), Gomes et al. (2004) e Malone et al. (2006) obtiveram variações ao estudarem padrões isoenzimáticos de fosfatase ácida em pepino, banana e arroz, respectivamente. A fosfatase ácida é considerada um excelente marcador devido a sua atividade para genes de resistência em plantas (VAN DAELEN et al., 1993; ZHONG et al., 1999), no entanto a participação dessa enzima na patogênese, ou resposta da planta à infecção, não está clara (ASSIS, 2006).

A peroxidase tem importante função metabólica na regulação iônica, ajuste osmótico e produção de NADPH, participam da fotorespiração e atuam na fixação de CO₂, sendo cada função dependente da localização da enzima dentro da planta (mitocôndrias, peroxissomas ou cloroplastos) (ALFENAS, 1998; ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990). Em estudos

conduzidos por Lopes, Bruckner e Lopes (2002) foram apresentados padrões enzimáticos para peroxidase, quando avaliaram a taxa de cruzamento em aceroleiras. Venere (1980) e Mellon (1991) relataram que alterações nos níveis de peroxidase e distribuição de isoformas são conhecidas por acompanhar processos de mecanismos de defesa dos hospedeiros a patógenos, como lignificação e suberização.

Alterações enzimáticas em plantas parasitadas por nematóides foram evidenciadas em várias pesquisas. Em estudos conduzidos por Molinari (1991), isoperoxidases foram detectadas em raízes de tomateiro resistentes (cv. Rossol) e suscetível (cv. Roma VF), quando infectadas ou não por *M. incognita*, no entanto, a atividade destas enzimas foi expressa de forma diferente nas cultivares. Todas as plantas apresentaram naturalmente produção de isoperoxidases quando não infestadas pelo nematóide, porém a infecção pelo parasita aumentou rapidamente a atividade destas enzimas na cultivar resistente, quando comparada com a suscetível. Assis (2006) verificou em plantas de alpínia (*Alpinia purpurata* (Vieill.) Schum) atividade isoenzimática de esterase, fosfatase ácida e peroxidase, no entanto, de maneira geral, a intensidade das bandas, principalmente as da fosfatase ácida, foi maior em plantas parasitadas com *M. incognita*.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA: AGRIANUAL. São Paulo: Editora Argos Comunicação, 2002. 521 p.

ALFENAS, A. C. (Ed.). **Eletroforeses de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa: UFV, 1998. 574 p.

ALVES, R. E.; SILVA, A. Q.; SILVA, H.; MUSSER, R. S. Contribuição ao estudo da acerola I. Efeitos do IBA e da sacarose no enraizamento de estacas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 2, p. 19-26, out. 1991.

AMARAL, M. Q. G. do. **Efeito de topos de ramos sobre o enraizamento de estacas de acerola (*Malpighia glabra* L.) em diferentes substratos**. 1992. 36p. Tese (graduação) – Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Rio Grande do Norte, 1992.

ANDRADE, J. M. B.; BRANDÃO FILHO, J. V. T.; VASCONCELOS, M. A. S. Efeito da poda na produtividade da acerola (*Malpighia glabra* L.) no primeiro ano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 17, n. 2, p. 45-49, 1995.

ASENJO, C. F. Vitamin C in acerola and hose hips. **Journal of Agricultural of University of Puerto Rico**, Rio Piedras, n. 43, p. 212-213. 1959.

ASENJO, C. F.; GUZMAN, A. R. F. The high ascorbic content of the West Indian cherry. **Science**, Washington, n.103, p. 219. 1946.

ARGLES, G. K. *Malpighia glabra* – Barbados cherry. In: GARNER, R. J.; CHAUDHRI, S. A. **The propagation of tropical fruit trees**. Fernham Royal, UK: FAO/CAB, 1976. p. 386-402 (CAB. Horticultural Review, 4).

ASSIS, S. A.; LIMA, D. C.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Activity of pectinmethylesterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at stages of fruit development, **Food Chemistry**, London, v. 74, p. 133- 137, 2001.

ASSIS, T.C. **Fitonematóides associados a Zingiberales ornamentais em Pernambuco, determinação do número de amostras, efeito de indutores de resistência e avaliação de mecanismos envolvidos**. 2006. 105 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2006.

AZERÊDO, G. A.; MATOS, V. P.; LIMA, A. A.; SILVA, A.; GUEDES, A. M. Viabilidade de sementes de acerola (*Malpighia puniceifolia*) influenciada pelo substrato, temperatura e coloração de frutos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 36, n. 1, p. 7-11, 2006.

BASTOS, D. C.; SCARPARE FILHO, J. A.; PIO, R.; LIBARDI, M. N.; ALMEIDA, L. F. P. Desenvolvimento inicial de mudas enxertadas e de estacas de caramboleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 2, p. 338-340, 2005.

BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; SILVA, M. F. F. da; SOUZA, A. A. de M. Enraizamento de estacas de acerola com ácido endolbutirico e ácido alfa-naftalenoacético com

baixas concentrações em duas épocas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 14, n. 1, p. 1-6, 1992.

BRAGA, M. F.; SANTOS, E. C.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SOUSA, A. A. T. C.; FALEIRO, F. G.; RESENDE, L. N.; JUNQUEIRA, K. P. Enraizamento de estacas de três espécies silvestre de *Passiflora*, **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 284-288, 2006.

BRAMMER, S. P. **Marcadores moleculares**: princípios básicos e uso em programa de melhoramento genético vegetal. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2000. 7 p. (Embrapa Trigo. Documento Online; 3). Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_do03.htm. Acessado em: 24/02/2007

CARES, J. E.; BLUM, L. E. B.; ANDRADE, E. P. Nematologia vegetal: uma introdução. In: BLUM, L. E. B.; CARES, J. E.; UESUGI, C. H. (Ed.). **Fitopatologia**: o estudo das doenças de plantas. Brasília: Otimismo, 2006. p. 128-166.

CARNEIRO, R. M. D. G.; CARNEIRO, R. G.; NEVES, D. I.; ALMEIDA, M. R. A. Nova raça de *Meloidogyne javanica* detectada em *Arachis pintoi* no Estado do Paraná. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 2, n. 7, p. 219-221, 2003.

COORDENADORIA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA INTEGRAL (SP). Cati lança nova acerola cultivar – Waldy Cati 30. São Paulo; 1997. 3 p.

CHOU DHURY, M. M.; CHOU DHURY, E.N. **Ocorrência de nematóides das galhas em aceroleira irrigada no Submédio São Francisco**. Petrolina, PE: EMBRAPA-CPATSA, 1992. 2p. (EMBRAPA-CPATSA. Comunicado Técnico, 50).

CLEGG, M. T.; ALLARD, R. W.; KAHLER, A. L. Is the gene unit of selection evidence from two experimental plant population. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.69, p. 2474-2478, 1990.

COOK, R. J. Advances on plant healthy management in the twentieth century. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v.38, p. 95-116, 2000.

COSTA JÚNIOR, W. H. **Enraizamento de estacas de goiabeira: influência de fatores fisiológicos e morfológicos**. 2000. 66f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

CUNHA, L. **Embrapa lança acerola rubra**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 1p. (Embrapa-CNPMPF, Notícias Online). Disponível em: http://www.embrapa.gov.br/noticias/banco_de_noticias/2004/dezembro/noticia.2004-12-23.7308228117/getView. Acesso em: 24/02/2007.

DONADIO, L. C. **Novas variedades brasileiras de frutas**. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2000. 205p.

ESBENSHADE, P.R.; TRIANTAPHYLLOU, A.C. Isozyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, Raleigh, NC, EUA, v. 22, p. 10-15. 1990.

FALCÃO, T. M. M. A; CONTEL, E. P. B. Genetic variability in populations of Brazilian social bees: III. Electrophoretic data for ME, GPD, SOD, and IDH. **Revista Brasileira de Genética**, São Paulo, v.14, n.1, p. 61-72. 1991.

FERRAZ, L. C.C. B.; MONTEIRO, R. R.; INOMOTO, M. M., Hospedabilidade da acerola em relação a sete espécies de fitonematóides. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 13, p. 39-49, 1989.

FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução a nematologia**. Viçosa: Editora UFV, 1999, v. 1, 84 p. (Caderno Didático)

GALLETI, S. R.; REZENDE, J. A. M. Doenças da figueira (*Ficus carica* L.). In: KIMATI, H.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005, v. 2, p.351-360.

GOMES, E.; DILERMANDO, P.; MARTINS, A. B. G.; FERRAUDO, A. S. Análise de grupamentos e de componentes principais no processo seletivo em genótipos de aceroleira

(*Malpighia emarginata*), **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 36-39, 2000.

GOMES, E. W. F.; WILLADINO, L.; MARTINS, L. S. S.; SILVA, S. O.; CÂMARA, T. R. Diplóides (AA) de bananeira submetidos ao estresse salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 525-531, 2004.

GONDIM, T. M. S.; LEDO, F. J. S.; CAVALCANTE, M. J. B.; SOUZA, A. G. C. Efeito da porção do ramo e comprimento de estacas na propagação de plantas de cupuaçu. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 1, p. 203-205, 2001.

GONZAGA NETO, L.; MATTUZ, B.; SANTOS, C. A. F. Caracterização agrônômica de clones de aceroleira (*Malpighia* spp) na Região do Submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.21, n.2, p.110–115, 1999.

GONZAGA NETO, L.; SOARES, J. M. **Acerola para exportação**: aspectos técnicos da produção. Brasília: EMBRAPA–SPI, 1994, 43p. (EMBRAPA–SPI, Publicações Técnicas FRUPEX, 10).

GOTTLIEB, L. D. Conservation and duplications of isozymes in plants. **Science**, Whashington, v. 216, p. 73-380, 1982.

HARTMAN, H. T.; KESLER, D. E.; FRED JUNIOR, T. D.; GENEVE, R. L. **Plant propagation**: principles and practices. New Jersey: Prentice Hall, 1997, 770 p.

INTERNATIONAL BOARD PLANT GENETIC RESOURCES, 1986, Rome, Italy. *Malpighia emarginata* (Acerola). In: INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES, 1986, Rome, Italy. **Genetic resources of tropical and subtropical fruits and nuts (excluding musa)**. Rome, 1986, p. 52-54.

JAYNES, J. M.; NAGPALA, P.; DESTÉFANO-BELTRÁN, L.; HUANG, J. H.; KIM, J.; DENNY, T.; CETINER, S. Expression of a cecropin B lytic peptide analog in transgenic tobacco plants confers enhanced resistance to bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. **Plant Science**, Whashington, v. 89, p. 43-53, 1993.

JUNQUEIRA, K. P.; PIO, R.; VALE, M. R.; RAMOS, J. D. **Cultura da acerola**. Lavras: UFLA, 2002, 31p. (UFLA. Boletim Técnico, 96).

KESSELI, R. V.; MICHELMORE, R. W. Genetic variation and phylogenesis detected from isozyme markers in species of *Lactuca*. **The Journal of Heredity**, Califórnia, v. 77, n. 5, p. 324-331, 1986.

LIMA, R. L. S.; SIQUEIRA, D. L.; WEBER, O. B.; CAZETTA, J. O. Comprimento de estacas e parte do ramo na formação de mudas de aceroleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 83-86, 2006.

LOPES, R.; BRUCKNER, C. H.; LOPES, M. T. G. Estimação da taxa de cruzamento da aceroleira com base em dados isoenzimáticos. **Revista Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 3, p. 321-327. 2002.

LOPES, R.; PAIVA, J. R. Aceroleira. In: BRUCKNER, C.H. **Melhoramento de fruteiras tropicais**. Viçosa: Editora Universidade Federal de Viçosa, 2002. p. 63-99.

MALONE, G.; ZIMMER, P. D.; CASTRO, A. S.; CARVALHO, I. L.; MENEGHELLO, G. E.; PESKE, S. T. Identificação do estádio adequado para realização de análises isoenzimáticas em arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, p.193-200. 2006.

MANICA, I.; ICUMA, I. M.; FIORAVANÇO, J. C.; PAIVA, J. R.; PAIVA, M. C.; JUNQUEIRA, N. T. V. **Acerola – Tecnologia de produção, pós-colheita, congelamento, exportação, mercados**. Porto Alegre: Editora Cinco Continentes, 2003, 394 p.

MARTINS, A. B. G.; NOGUEIRA, J. A. D.; MATTOS, L. P. B. Fatores que afetam a propagação da aceroleira (*Malpighia glabra*) por estaquia herbácea. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 16., 2000, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBF, 2000. 1. CD-ROM.

MARTY, G. M.; PENNOCK, W. Práticas agronômicas para el cultivo comercial de la acerola em Puerto Rico. **Revista de Agricultura de Puerto Rico**, Puerto Rico, v. 52, p. 107-111, 1965.

MELETTI, L. M. M. **Propagação de fruteiras tropicais**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 239 p.

MELLON, J. E. Purification and characterization of isoperoxidases elicited by *Aspergillus flavus* in cotton ovule cultures. **Plant Physiology**, New York, v. 95, p. 14-20, 1991.

MOLINARI, S. Inductin of isoperoxidase in resistant and susceptible tomato cultivars by *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, Lawrencece, v. 23, n. 2, p. 254-258, 1991.

MOURA, R. M. Doenças do inhame (*Dioscorea cayannensis* Lam. Var. *rotundata* Poir.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p. 415-419.

MOURA, R. M. Histórico da taxonomia dos nematóides. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 155-170, 2005.

MUSSER, R. S. **Caracterização de acessos de aceroleira (*Malpighia emarginata*) do Banco Ativo de Germoplasma da UFRPE em Pernambuco**. 2001. 143 p. Tese (Doutorado)- Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2001.

NASCIMENTO, C. E. da S. Efeito do ácido indolbutírico sobre o enraizamento de estacas semilenhosas de acerola. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 3, p. 255-257, out. 1991.

OLIVEIRA, J. A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; PEIXOTO, J. R.; PEREIRA, A. V. Efeito dos substratos artificiais no enraizamento e no desenvolvimento de estacas de maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 505-508, 2002.

OLIVEIRA, J. R. P.; SOARES FILHO, W. S.; CUNHA, R. B. da. **A cultura da acerola no Brasil**. Cruz das Almas. EMBRAPA–CNPMPF, 1998. 35 p. (EMBRAPA – CNPMPF. Documentos, 85)

OLIVEIRA, R. P.; RADMANN, E. B. Genetic similarity of citrus fresh fruit market cultivars. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 27, n. 2, p. 332-334, 2005.

PAIVA, J. R.; ALVES, R. E.; BARROS, L. M.; CRISÓSTOMO, J. R.; MOURA, C. F. H.; ALMEIDA, A. S.; NORÕES, N. P. **Clones de aceroleira: BRS 235 ou Apodi, BRS236 ou Cereja, BRS237 ou Roxinha e BRS238 ou Frutacor**. Fortaleza: EMBRAPA- Agroindústria Tropical, 2003, 3p. (EMBRAPA-CNPAT. Comunicado Técnico, 87).

PIO, R.; ARAUJO, J. P. C.; SCARPARE FILHO, J. A.; MOURÃO FILHO, F. A. A.; ALVARENGA, A. A.; ABRAHÃO, E. Potencial de propagação de cultivares de marmeleiro por estaquia, **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 287-289, 2004.

PIO-RIBEIRO, G.; ASSIS FILHO, F. M. Doenças do caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). In: KIMATI, H.; BERGAMIN FILHO A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997, v. 1, p.233-244.

RIOS, P. R. P.; SILVEIRA, E. B.; MARTINS, L. S. S.; SILVA NETO, E. B.; GOMES, A. M. A. Caracterização de isolados de *Colletotrichum lagenarium* de pepino com base em marcadores isoenzimáticos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, p. 729-733, 2004.

RITZINGER, C. H.; RITZINGER, R. Nematóides em acerola, Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas/BA. 2005. Disponível em: <http://www.boletimpecuario.com.br/artigos>. Acesso em: 23 mar. 2007.

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILELLA, F. A. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, p. 104-114. 2005.

SBALCHEIRO, C. C. **Ação do biocontrolador com atividade de indução de resistência no controle do cretamento bacteriano comum do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2006, 124 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Passo Fundo, Rio Grande do Sul, 2006.

SCANDALIOS, J. G. Control of gene expression and enzyme differentiation. In: SCANDALIOS, J.G. (Ed.). **Physiological genetics**, New York: Academic Press, 1979. p. 63-107.

SCARPARE FILHO, J. A.; TESSARIOLI NETO, JUNIOR; COSTA JR., W. H.; KLUGE, R. A. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas herbáceas de jaboticabeira “Sabará” (*Myrciaria jaboticaba*) em condições de nebulização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 2, p. 146-149. 1999.

SHIELDS, C. R.; ORTON, T. J.; STUBER, C. W. An outline of general resource needs and procedures for the electrophoretic separation of active enzymes from plant tissue. In: TANKSLEY, S.D.; ORTON, T.J. (Ed.). **Isozymes in plant genetics and breeding**. Amsterdam: Elsevier, 1983, part. a, p. 443-468.

SIMÃO, S. **Tratado de Fruticultura**. Piracicaba: FEALQ, 1998. 760 p.

TANKSLEY, S. D. **Isozymes**. Amsterdam: Elsevier, 1983, part. b., 472 p.

TANKSLEY, S. D.; ORTON, T. J. **Isozymes in plant genetics and breeding**. Amsterdam: Elsevier, 1983. part. a, 472 p.

TOFANELLI, M. B. D. **Enraizamento de estacas lenhosas e semilenhosas de cultivares de pessegueiro em diferentes concentrações de ácido indolbutírico**. 1999. 87f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

TORGGLER, M. G. F.; CONTEL, E. P. B.; TORGGLER, S. P. Isoenzimas – variabilidade genética em plantas. Ribeirão Preto. **Sociedade Brasileira de Genética**, 1995. 175 p.

VAN DAELEN, R. A. J. J.; GERBENS, F.; VAN RUISSEM, F.; AARTS, J.; HONTELEZ, J.; ZABELL, P. Long-rang physical maps of two loci (Aps-1 and GP79) flanking the root-knot nematode resistance gene (Mi) near the centromere of tomato chromosome 6. **Plant Molecular Biology**, v. 23, p. 185-192, 1993.

VENERE, R. J. Role of peroxidase in cotton resistance to bacterial blight. **Plant Science**, v. 20, p. 47-56, 1980.

ZHONG, X. B.; BODEAU, J.; FRANSZ, P. F.; WILLIAMSON, V. M.; VAN KAMMEN, A.; JONG, J. H.; ZABEL, P. FISH to meiotic pachytene chromosome of tomato locates the root-knot nematode resistance gene Mi-1 and the acid phosphatase gene Aps-1 near the junction of euchromatin and pericentromeric heterochromatin of chromosome arms 6S and 6L, respectively. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 98, p. 365-370, 1999.

4. TRABALHOS

**4.1. POTENCIAL DE ENRAIZAMENTO EM GENÓTIPOS DE ACEROLEIRA
(*Malpighia emarginata* D. C.) VISANDO A OBTENÇÃO DE PORTA-ENXERTO**

Trabalho enviado para a **Revista Bragantia**

POTENCIAL DE ENRAIZAMENTO EM GENÓTIPOS DE ACEROLEIRA (*Malpighia emarginata* D.C.) VISANDO A OBTENÇÃO DE PORTA-ENXERTO

Jackeline Gadé de Araujo Rossiter¹, Rosimar dos Santos Musser²; Venézio Felipe dos Santos³

RESUMO

O estudo foi realizado com dezoito genótipos de aceroleira, sendo que as estacas semilenhosas foram coletadas em dois períodos (seco e chuvoso) e o experimento foi conduzido em estufa, onde foram colocadas para enraizamento em substrato areia lavada + cama de galinha + carvão vegetal triturado na proporção 10:1:1 v/v. A avaliação ocorreu aos 58 e 111 dias após o plantio observando a taxa de enraizamento, presença/ausência de calo e índices de mortalidade, com estacas semi-lenhosas apresentando 2 internódios e 2 pares de folhas, sob estufa e sem utilização de fitohormônios para diversos genótipos. Os genótipos 001-SPE, 002-SPE, 027-CMF, 035-CMF e 041-CMF foram os mais precoces em relação ao enraizamento, apresentando potencial para porta-enxerto de aceroleiras.

Termos de Indexação: propagação, *Malpighia glabra*, estaquia.

POTENTIAL OF ROOT GROWING THE GENOTYPES BARBADOS CHERRY (*Malpighia emarginata* D.C.) AIMING ROOT STOCK ATTAINMENT

ABSTRACT

The study it was carried through with eighteen genotypes of Barbados cherry having been the cuttings planted in polyethylene stock market and lead the experiment in greenhouse. The cuttings had been placed for root growing in substratum washed sand + hen bed + vegetal coal triturated in ratio 10:1:1 v/v. The evaluation after occurred to the 58 and 111 days the

¹Mestranda em Melhoramento Genético de Plantas, ²Departamento de Agronomia – Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP 52.171-900, Dois Irmãos, Recife, PE; ³Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), CEP 50.761-000, San Martin, Recife, PE; e-mail: jgarossiter@gmail.com.br

plantation observing the performance how much to the root growing, presence/ absence of callus and indices of mortality, where the cuttings with 2 internódios and 2 pairs of leaves reveal appropriate to the root growing, under greenhouse and without use of fitohormônios for diverse genotypes. Genotypes 001-SPE, 002-SPE, 027-CMF, 035-CMF and 041-CMF are precocious in relation to the root growing, presenting potential for root stock the barbados cherry.

Additional keywords: propagation, *Malpighia glabra*, cuttings.

INTRODUÇÃO

A fruticultura representa papel relevante na economia nacional. O Brasil é um dos três maiores produtores mundiais de frutas (cerca de 39 milhões de toneladas por ano), exportando pouco mais de 1% da sua produção *in natura*, ocupando o 20º lugar entre os países exportadores, segundo dados do Ministério da Agricultura (AGRIANUAL, 2002). O Brasil é o maior produtor de acerola, sendo que na região Nordeste a área plantada é superior a 2.000 hectares (FRANÇA e NARAIN, 2003).

O interesse dos produtores e do mercado consumidor da acerola (*Malpighia emarginata*, antes denominada *M. glabra*) surgiu em razão do alto teor de vitaminas e compostos benéficos do fruto, como antioxidantes, descobertos por ASENJO (1959) e confirmados por ASSIS et al. (2001). Os carotenóides presentes na acerola podem fornecer 720 a 4.540 unidades internacionais de vitamina A por 100 gramas de fruto, enquanto a concentração de vitamina C pode variar entre 1.325 e 2.250 mg por 100 mL de suco (GONZAGA NETO e SOARES, 1994; VISENTAINER et al., 1997).

No cultivo da aceroleira no Brasil existe grande desuniformidade dos pomares, pois nas áreas estabelecidas foram utilizadas mudas provenientes de sementes (JUNQUEIRA et al., 2002). Esta propagação por via sexual apresenta como inconveniente a segregação hereditária

(MARTINS et al., 2000), além de um baixo poder germinativo que varia em torno de 15% a 30% (AZERÊDO et al., 2006).

O domínio do método de propagação é fundamental, tanto para o melhorista, como para o agricultor e a indústria, por assegurar a formação de plantios de aceroleira uniformes e de qualidade (GOMES et al., 2000). Dentre os métodos clássicos de propagação vegetativa, cita-se a estaquia, e sua viabilidade na fruticultura está condicionada à facilidade de enraizamento de cada espécie ou cultivar (GONDIM et al., 2001) e à capacidade de desenvolvimento do sistema radicular (HARTMAN et al., 1997), que são duas características fundamentais para o posterior desenvolvimento da planta na área de produção.

A estaquia é um dos métodos mais importantes no processo de propagação vegetativa e destaca-se por promover a multiplicação de plantas matrizes selecionadas, mantendo as características desejáveis (MELETTI, 2000). Nela se obtém plantas com maior estabilidade genética, tendo pomares mais uniformes, mais produtivos e frutos mais homogêneos (OLIVEIRA et al., 2002). Além dessas vantagens MUSSER (2001) relaciona a produção precoce, simplicidade e rapidez na produção de mudas como características importantes.

No entanto, existem espécies que apresentam facilidade em emitir raízes adventícias de suas estacas, outras as emitem regularmente e há aquelas com dificuldade no enraizamento (TOFANELLI, 1999), além de depender de uma série de fatores, como: características genéticas, condição fisiológica, nutricional e idade da planta matriz, época de coleta e tipo de estacas, entre outros (SCARPARE FILHO et al., 1999).

A presença de folhas no enraizamento de estacas influencia no processo de formação radicular, auxiliando no transporte de substâncias promotoras de enraizamento e promovendo a perda de água por transpiração (COSTA JÚNIOR, 2000). Estes fatores de influência devem ser mais bem estudados, pois sua interação interfere significativamente no processo de propagação vegetativa.

O objetivo deste trabalho foi comparar a potencialidade de dezoito genótipos de aceroleira quanto ao enraizamento e formação de calo em estacas semilenhosas, em dois períodos de enraizamento e repetido em dois anos de observação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no campus do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) onde foram testados dezoito genótipos, sendo dezessete do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de aceroleira situado na Estação Experimental de Cana-de-açúcar (E.E.C.A.C.), pertencente a UFRPE, no município do Carpina-PE, cuja idade variando entre 7 e 8 anos, e uma matriz independente (não pertencente ao BAG) com aproximadamente 5 anos de idade. As estacas semilenhosas foram coletadas em 12/10/05 (período seco) e 07/05/06 (período chuvoso), entre o 8º e o 10º nó, apresentando dois pares de folhas e dois internódios. Na extremidade apical foi dado um corte reto acima do nó e na extremidade basal um corte em bisel logo abaixo do nó (MUSSER, 2001).

Após as estacas serem retiradas da planta, foram acondicionadas em sacos plásticos com um pouco de água para que não perdessem a turgidez. Em seguida foram plantadas em canteiros, a 1/3 do seu comprimento, em substrato de areia lavada + carvão vegetal triturado + cama de galinha, na proporção 10:1:1 v/v. O canteiro, com 6,0m de comprimento por 1,0m de largura e 0,2m de profundidade, foi coberto com filme plástico transparente formando uma câmara úmida, a uma altura central de 0,4m e lateral de 0,15m. Por sobre a câmara úmida foi colocado uma cobertura alta a 1,2m do solo, com sombrite, reduzindo a luminosidade em 50%. A irrigação foi diária mantendo a umidade acima de 80%.

O experimento teve um delineamento inteiramente casualizado com 18 tratamentos (genótipos) e três repetições, sendo cada parcela composta por vinte estacas. As características avaliadas, após 58 e 111 dias do plantio das estacas nos dois anos de observação, foram taxa de

enraizamento, presença/ausência de calo e índice de mortalidade. Os resultados foram submetidos a análise de variância conjunta utilizando-se o programa GENES versão 2006.4.1 (CRUZ, 2006), e as médias comparadas pelo teste de agrupamentos de Scoot Knoot.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1- Performance quanto ao enraizamento

Na Tabela I encontram-se os resultados da avaliação de dezoito genótipos de aceroleira, aos 58 dias mostrando uma variação entre 70,83 e 80,83%, onde se destacam os genótipos 002-SPE, 041-CMF, 027-CMF e 035-CMF como os mais precoces em relação ao enraizamento através de estacas semilenhosas. Esses resultados foram confirmados na avaliação realizada aos 111 dias, sendo acrescidos também dos genótipos 001-SPE e 023-CMF, que apresentaram os melhores índices para essa variável, ou seja, acima de 61,94% de enraizamento. Essas variações também foram encontradas nos trabalhos de BEZERRA et al. (1991), com índices de até 75,50% para estacas herbáceas sem o uso de fitohormônios; MEDEIROS et al. (1994) com até 86,30% de enraizamento e MUSSER (2001) com índices de até 92,47% de enraizamento, ambos usando a mesma metodologia deste trabalho. Alguns fatores como a idade da planta matriz, época da retirada do material de propagação e tipo de estaca, podem influenciar substancialmente na propagação por estaquia (SCARPARE FILHO et al., 1999). Entretanto, nos estudos realizados com estaquia no mesmo BAG de aceroleira por MUSSER (2001) revelaram que os genótipos 002-SPE, 035-CMF, 041-CMF e 027-CMF mostraram percentuais semelhantes, com valores entre 61,90 e 92,50%, respectivamente, aos 50 dias, estando as plantas matrizes na qual foram retiradas as estacas, em média, 5 a 6 anos mais jovens. Os dados confirmam, portanto, a boa performance dos genótipos estudados em relação ao enraizamento por estacas semi-lenhosas, indicando-os como potencialmente promissores para essa característica, na obtenção de porta-

enxerto, aliado a outras de interesse para a mesma finalidade. O genótipo 002-SPE merece destaque quanto a taxa e precocidade em relação ao enraizamento, pois no presente estudo alcançou 85,00 e 80,83% aos 58 e 111, dias respectivamente, o mesmo acontecendo nos estudos realizados por MUSSER (2001), que observou 92,50% de enraizamento aos 50 dias.

Em relação a influência da temperatura e da umidade relativa do ar (Figura I), observa-se que o enraizamento foi melhor em 2006 para os dois períodos avaliados (Tabelas II). Nesse ano a coleta das estacas foi feita no período chuvoso, com as plantas estando, portanto mais túrgidas e consumindo menor reserva devido à baixa frutificação, que é normal desta época.

2- Performance quanto a presença/ausência de calo

A formação de calo constitui um tecido pouco diferenciado, desorganizado e em diferentes etapas de lignificação, representando o início do processo de regeneração, levando as células a se tornarem meristemáticas, dividindo e originando primórdios radiculares (FACHINELLO et al., 1994). Portanto, os genótipos que se destacam nesta variável possuem potencial para enraizamento desde que se possa prolongar o tempo e/ou utilizar substâncias indutoras do enraizamento.

Observa-se que o genótipo 015-CPA destaca-se nessa variável com índices de 70,00 e 57,51%, respectivamente, aos 58 e 111 dias, sendo que aos 111 dias não difere também dos genótipos 033-CMF, Matriz-PPE, 046-CMF, 025-CMF, 026-CMF, 035-CMF, 018-CMF e 007-TPA, com valores variando entre 26,94 e 57,51%. Em todos esses genótipos os índices de enraizamento variaram entre 15,83 a 70,83% e 30,12 a 64,80% aos 58 e 111 dias, respectivamente, que aliado a baixa mortalidade (< 10,5%) observadas na Tabela I, confirmam a necessidade do uso de indutores de enraizamento, a depender apenas de outras características de interesse que venham a elas ser somadas, na perspectiva da utilização futura como porta-enxerto nessa cultura. Nos estudos de MUSSER (2001) observa-se que o genótipo 015-CPA segue a mesma tendência em relação à capacidade de enraizamento e formação de calo. Entretanto, no

mesmo trabalho o genótipo 033-CMF apresentou 83,60% de enraizamento e 10,90% de formação de calo. Segundo FACHINELLIO et al. (1994), a capacidade de estacas emitirem raízes depende de fatores endógenos e das condições ambientais apropriadas ao enraizamento. Tudo indica que a planta matriz desse genótipo (033-CMF), da qual foram utilizadas as estacas no presente trabalho, sofreram influência desses fatores.

A ausência de calo foi observada com índices que variaram entre 40,83 e 44,17%, aos 58 dias, para os acessos 046-CMF, 005-APE e 024-CMF. Aos 111 dias estes genótipos permaneceram com os maiores índices, acrescido do genótipo 003-APE, com 34,12% (Tabela I). Observa-se que apenas para o genótipo 001-SPE, por ter sido o de melhor performance em relação ao enraizamento, não seria recomendado a utilização de indutor. Para os demais genótipos, a depender do interesse em relação a outras características desejadas a uma planta destinada a porta-enxerto, se faria necessário o uso de indutores. Nos estudos de MUSSER (2001) observa-se para o genótipo 005-APE a mesma tendência.

Observa-se que aos 58 dias (Tabela II) houve influência da temperatura e umidade relativa do ar (Figura I) quanto a formação de calo, favorecido no ano de 2006. Entretanto, não houve diferença significativa para essa mesma característica aos 111 dias. Já a ausência de calo foi significativa nos dois períodos, favorecida no ano de 2006, considerando a performance quanto ao enraizamento e formação de calo no mesmo ano.

3- Índice de mortalidade

Observa-se nesse estudo que existe uma tendência mostrando que, em geral, quanto maior os índices de enraizamento e/ou formação de calo menor são os índices de mortalidade das estacas (Tabela I). Verificou-se que o genótipo 002-SPE se destacou nos dois períodos de observação, com índices de 5,00 e 0,00%. O mesmo ocorreu com o genótipo 015-CPA, que se destacou na formação de calo, revelando um índice de mortalidade entre 4,17 e 6,43%. Nota-se no acesso 033-CMF, que foi intermediário nos índices de enraizamento e formação de calo, a presença da mesma tendência. O genótipo 005-APE mostrou os maiores índices de mortalidade,

apresentando também baixos índices de enraizamento e formação de calo (Tabela I). Para o mesmo genótipo MUSSER (2001) encontrou um baixo índice de mortalidade (3,70%) e níveis intermediários de enraizamento e formação de calo. Tais ocorrências sugerem que fatores endógenos à planta e/ou ambientais podem ter interferido na performance deste genótipo no presente estudo. Esse fato também pode explicar os índices elevados de mortalidade encontrados no genótipo 018-CMF, embora MUSSER (2001) tenha encontrado índices enraizamento semelhantes.

Os índices de mortalidade foram favorecidos também em 2006 seguindo, de um modo geral, a mesma tendência das demais características estudadas, para os dois períodos de avaliação (Tabela II). De um modo geral, os índices de mortalidade foram baixos para a maioria dos genótipos, indicando eficácia da metodologia utilizada.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que:

Os genótipos 001-SPE, 002-SPE, 027-CMF, 035-CMF e 041-CMF são os mais precoces em relação ao enraizamento de estacas semi-lenhosas, apresentando potencial para porta-enxerto de aceroleiras, nas condições deste trabalho;

Os demais genótipos estudados necessitariam do uso de fitohormônios para estimular o enraizamento, a depender do interesse em relação a outras características agronômicas, destinadas para porta-enxerto.

AGRADECIMENTOS

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo ao primeiro autor, ao Programa de Educação Tutorial (PET/MEC/SESu) pela concessão da bolsa ao segundo autor e a UFRPE através do Programa de Pós-graduação em Melhoramento Genético de Plantas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA: AGRIANUAL. São Paulo: Editora Argos Comunicação, 2002. 521 p.

ASENJO, C. F. Vitamin C in acerola and hose hips. **Journal of Agricultural of University of Puerto Rico**, Rio Piedras, n. 43, p. 212-213. 1959.

ASSIS, S. A.; LIMA, D. C.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Activity of pectinmethylesterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at stages of fruit development. **Food Chemistry**, London, v. 74, p. 133- 137, 2001.

AZERÊDO, G. A.; MATOS, V. P.; LIMA, A. A.; SILVA, A.; GUEDES, A. M. Viabilidade de sementes de acerola (*Malpighia puniceifolia*) influenciada pelo substrato, temperatura e coloração de frutos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 36, n. 1, p. 7-11, 2006.

BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; ASCHOFF, M. N. A. Efeito do tamanho das estacas herbáceas e do ácido indobutírico no enraizamento de acerola (*Malpighia glabra* L.) em duas épocas de estaquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 3, p. 157-163, 1991.

CHOUHDURY, M. M.; CHOUHDURY, E.N. **Ocorrência de nematóides das galhas em aceroleira irrigada no Submédio São Francisco**. Petrolina, PE: EMBRAPA-CPATSA, 1992. 2p. (EMBRAPA-CPATSA. Comunicado Técnico, 50).

COSTA JÚNIOR, W. H. Enraizamento de estacas de goiabeira: influência de fatores fisiológicos e morfológicos. 2000. 66f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

CRUZ, C. D. Programa Genes: versão Windows; aplicativo computacional em genética e estatística experimental. Viçosa: UFV. 2006.

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

FRANÇA, V. C.; NARAIN, N. Caracterização química dos frutos de três matrizes de acerola (*Malpighia emarginata*). Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 23, n. 2, p.157-160. 2003.

GOMES, E.; DILERMANDO, P.; MARTINS, A. B. G.; FERRAUDO, A. S. Análise de grupamentos e de componentes principais no processo seletivo em genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata*), Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 36-39, 2000.

GONDIM, T. M. S.; LEDO, F. J. S.; CAVALCANTE, M. J. B.; SOUZA, A. G. C. Efeito da porção do ramo e comprimento de estacas na propagação de plantas de cupuaçu. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 23, n. 1, p. 203-205, 2001.

GONZAGA NETO, L.; SOARES, J. M. **Acerola para exportação: aspectos técnicos da produção.** Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994, 43p. (EMBRAPA-SPI, Publicações Técnicas FRUPEX, 10).

HARTMAN, H. T.; KESLER, D. E.; FRED JUNIOR, T. D.; GENEVE, R. L. Plant propagation: **principles and practices**. New Jersey: Prentice Hall, 1997, 770 p.

INTERNATIONAL BOARD PLANT GENETIC RESOURCES, 1986, Rome, Italy. *Malpighia emarginata* (Acerola). In: INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES, 1986, Roma. **Genetic resources of tropical and subtropical fruits and nuts (excluding musa)**. Roma, 1986, p. 52-54.

JUNQUEIRA, K. P.; PIO, R.; VALE, M. R.; RAMOS, J. D. **Cultura da acerola**. Lavras: UFLA, 2002, 31p. (UFLA. Boletim Técnico, 96).

MARTINS, A. B. G.; NOGUEIRA, J. A. D.; MATTOS, L. P. B. Fatores que afetam a propagação da aceroleira (*Malpighia glabra*) por estaquia herbácea. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 16., 2000, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBF, 2000. 1. CD-ROM.

MEDEIROS, I. C. M.; HOLANDA, R. S.; SANTOS, J. L.; ANJOS, F. J. S.; MUSSER, R. S. Efeito do comportamento de estacas terminais e subterminais de aceroleira (*Malpighia glabra* L.) em estufa. II Parte.. **Caderno Ômega**, Recife/PE, n. 6, p. 83-89, 1994.

MELETTI, L. M. M. **Propagação de fruteiras tropicais**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 239 p.

MUSSER, R. S. **Caracterização de acessos de aceroleira (*Malpighia emarginata*) do Banco Ativo de Germoplasma da UFRPE em Pernambuco**. 2001. 143 p. Tese (Doutorado)- Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2001.

OLIVEIRA, J. A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; PEIXOTO, J. R.; PEREIRA, A. V. Efeito dos substratos artificiais no enraizamento e no desenvolvimento de estacas de maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 24, n. 2, p. 505-508, 2002.

SCARPARE FILHO, J. A.; TESSARIOLI NETO, JUNIOR; COSTA JR., W. H.; KLUGE, R. A. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas herbáceas de jaboticabeira “Sabará” (*Myrciaria jaboticaba*) em condições de nebulização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 2, p. 146-149. 1999.

TOFANELLI, M. B. D. **Enraizamento de estacas lenhosas e semilenhosas de cultivares de pessegueiro em diferentes concentrações de ácido indolbutírico**. 1999. 87f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

VISENTAINER, J. V.; VIEIRA, O. A.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N. E. Características físico-químicas da acerola *Malpighia glabra* produzida na região de Maringá. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Guatemala, v.47, n.1, p.70-72, 1997.

Tabela I: Análise de variância conjunta da percentagem de estacas semilenhosas enraizada, com calo, sem calo e morta de aceroleira avaliadas, após 58 e 111 dias do plantio nos anos de 2005 e 2006

Genótipo	Percentagem (%)							
	enraizada		com calo		sem calo		morta	
	58 dias	111 dias	58 dias	111 dias	58 dias	111 dias	58 dias	111 dias
001-SPE	66,67 B*	80,00 A	1,67 E	0,00 B	18,33 B	15,83 B	13,33 C	4,17 C
002-SPE	80,83 A	85,00 A	7,50 D	8,33 B	6,67 C	6,67 B	5,00 D	0,00 C
003-APE	61,67 B	47,84 B	13,33 D	16,52 B	15,83 B	34,12 A	9,17 C	1,52 C
005-APE	24,17 D	17,36 B	10,83 D	18,95 B	41,67 A	27,13 A	23,33 A	36,56 A
007-TPA	54,17 B	46,81 B	10,83 D	26,94 A	24,17 B	14,44 B	10,83 C	11,81 B
015-CPA	15,83 D	33,98 B	70,00 A	57,51 A	10,00 C	2,08 B	4,17 D	6,43 C
018-CMF	47,50 C	43,25 B	10,83 D	26,98 A	11,67 C	10,32 B	30,00 A	19,44 B
023-CMF	38,33 C	67,74 A	29,17 C	18,67 B	20,00 B	8,60 B	12,50 C	5,00 C
024-CMF	40,83 C	44,17 B	11,67 D	21,32 B	40,83 A	26,33 A	6,67 D	8,18 C
025-CMF	44,17 C	57,28 B	29,17 C	29,39 A	17,50 B	6,67 B	9,17 C	6,67 C
026-CMF	34,17 D	55,68 B	47,22 B	28,19 A	16,94 B	2,43 B	10,00 C	13,70 B
027-CMF	71,67 A	79,05 A	10,00 D	15,24 B	12,50 C	4,05 B	5,83 D	1,67 C
033-CMF	45,00 C	43,89 B	46,67 B	43,98 A	5,83 C	1,67 B	2,50 D	10,47 B
035-CMF	70,83 A	64,79 A	13,33 D	27,44 A	14,17 C	6,25 B	1,67 D	1,52 C
036-CMF	60,00 B	50,60 B	13,33 D	19,25 B	9,17 C	12,50 B	17,50 B	17,66 B
041-CMF	74,17 A	61,94 A	0,83 E	20,83 B	18,33 B	11,81 B	6,67 D	5,42 C
046-CMF	25,83 D	30,12 B	14,17 D	33,81 A	44,17 A	30,46 A	15,83 B	5,61 C
Matriz-PPE	34,17 C	51,50 B	48,33 B	39,24 A	15,83 B	8,34 B	1,67 D	0,93 C

* Médias geral dos grupos diferem entre si, pelo teste de Scoot Knott.

Tabela II: Avaliação conjunta da percentagem de estacas semilenhosas aos 58 e 111 dias do plantio nos anos de 2005 e 2006

Anos	Percentagem (%)							
	enraizada		com calo		sem calo		morta	
	58 dias	111 dias	58 dias	111 dias	58 dias	111 dias	58 dias	111 dias
2005	42,13 B*	47,73 B	17,96 B	24,19 A	27,50 A	16,67 A	12,41 A	11,41 A
2006	55,83 A	59,05 A	25,25 A	26,09 A	10,68 B	8,85 B	8,21 B	6,00 B

* Médias geral dos grupos diferem entre si, pelo teste de Scoot Knott.

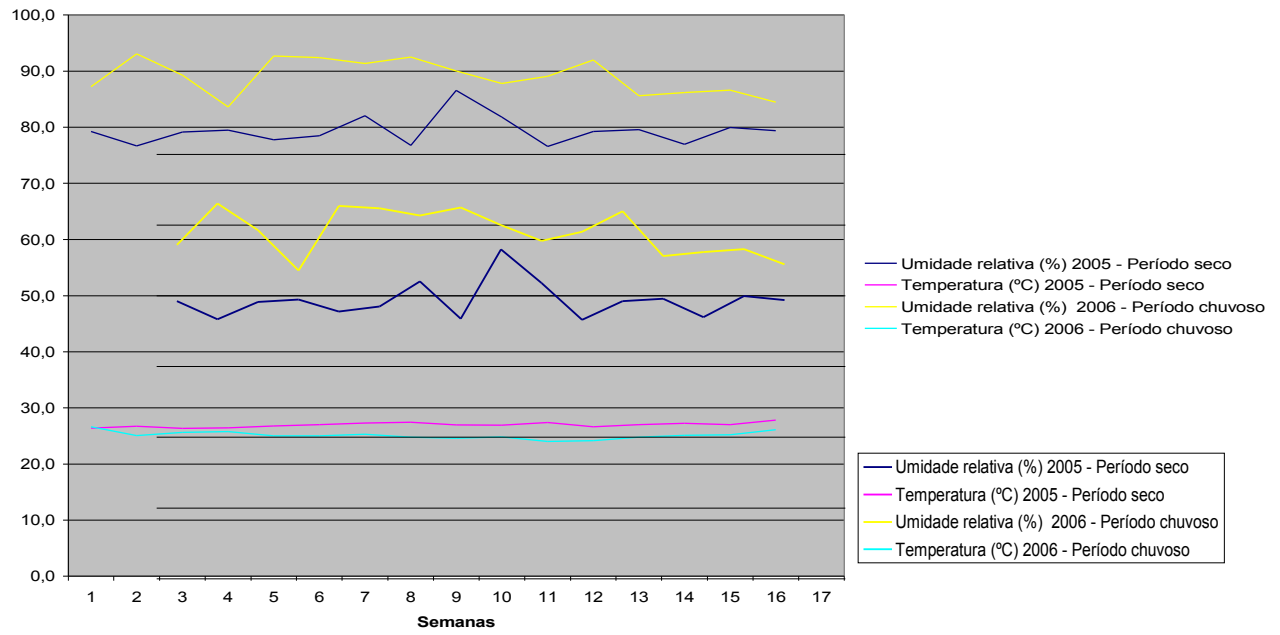


Figura I: Variação média semanal da umidade relativa do ar (%) e da temperatura (°C), no Campus da UFRPE, Recife/PE.

Semanas

**4.2. Seleção de genótipos de aceroleira assistida por marcadores moleculares
visando resistência a *Meloidogyne incognita* raça 2**

Trabalho enviado para a **Revista Brasileira de Fruticultura**

Seleção de genótipos de aceroleira assistida por marcadores moleculares visando resistência a *Meloidogyne incognita* raça 2

Jackeline Gadé de Araujo Rossiter², Rosimar dos Santos Musser², Luiza Suely Semen Martins³, Elvira Maria Regis Pedrosa⁴

RESUMO

Com a expansão da cultura da aceroleira, surgiram problemas de pragas e doenças, entre estas, uma doença que é de difícil controle é a infecção das raízes da aceroleira por nematóides. Como os produtos químicos utilizados no controle do nematóide são muito agressivos ao meio ambiente, a solução deste problema está em estudos que visam a seleção de genótipos resistentes e tolerantes a nematóide. No presente trabalho 18 genótipos de aceroleira foram infectados com *Meloidogyne incognita* raça 2 utilizando-se mudas oriundas de estaquia plantadas em sacos de polietileno contendo 2kg de substrato que foi infestado com 18.000 ovos do patógeno. As plantas foram mantidas com irrigação, e a avaliação realizada 60 dias após a inoculação mediante análise das variáveis, número de ovos por planta e por grama de raiz, índice de galhas e massa de ovos, biomassa fresca relativa do sistema radicular e biomassa fresca relativa da parte aérea. Os resultados permitiram identificar o genótipo 023-CMF como menos susceptível e os genótipos 027-CMF e 035-CMF como mais suscetíveis. Também foram realizados estudos, através da eletroforese isoenzimática com os sistemas α -esterase, fosfatase ácida e peroxidase, 20, 40 e 60 dias após a inoculação com ovos de *M. incognita* raça 2, o que possibilitou relacionar a expressão de proteínas com a suscetibilidade. Os genótipos mais próximos geneticamente, com índice de similaridade 0,941 foram 027-CMF e 026-CMF, 046-CMF e 026-CMF e 041-CMF e 026-CMF. O menor índice de similaridade genética (0,115) foi observado entre os genótipos 002-SPE e 036-CMF.

Palavras-chave adicionais: porta-enxerto, nematóide, isoenzimas.

²Mestranda em Melhoramento Genético de Plantas, ²Departamento de Agronomia, ³Departamento de Biologia, ⁴Departamento de Tecnologia Rural – Universidade Federal Rural de Pernambuco, CEP 52.171-900, Dois Irmãos, Recife, PE; e-mail: jgarossiter@gmail.com.br

ABSTRACT

Screening genotypes of barbados cherry using molecular markers for resistance to *Meloidogyne incognita* race 2

With the expansion of barbados cherry cropping, problems with pests and diseases have increased, being the infection of roots by nematodes a main disease due to difficult control. As the chemical products to control nematodes are very aggressive to the environment, screening resistant and tolerant genotypes to the nematode infection may decrease this problem. In the present work 18 genotypes of barbados cherry were infected with *Meloidogyne incognita* race 2 using deriving changes of cuttings planted in polyethylene bags containing 2 kg of substratum infected with 18,000 eggs of the pathogen. The plants were kept under irrigation and evaluation carried out 60 days after inoculation by analyzing by means of study of the system to the variables number of eggs per plant and per gram of root, gall and egg mass index, relative biomass of the root system and relative biomass of the shoots. The results permitted to identify the genotype 023-CMF as the less susceptible and the genotypes 027-CMF and 035-CMF as the most susceptible. Also isoenzymatic studies were carried out for α -esterase, acid fosfatase and peroxidase at 20, 40 and 60 days after inoculation with eggs of *M. incognita* race 2, that makes possible to relate the proteins production with the susceptibility. The genetically most close genotypes, with similarity index 0.941 were 027-CMF and 026-CMF, 046-CMF and 026-CMF, and 041-CMF and 026-CMF. The lowest genetics similarity index (0.115) was observed between the genotypes 002-SPE and 036-CMF.

Additional keywords: root stock, nematode, isoenzimas.

INTRODUÇÃO

O nematóide das galhas é um fitopatógeno de importância econômica (International Board Plant Genetic Resources, 1986) e a infecção na planta prejudica a absorção de água e nutrientes, gerando sintomas de enfraquecimento na parte aérea e sistema radicular (Choudhury & Choudhury, 1992). Embora as perdas cheguem a 12,3% nas culturas de maior importância mundial (Tihohod, 1993), apesar da diagnose ser facilmente realizada por meio de análise do solo e raízes, os danos causados pelos

nematóides das galhas podem ser confundidos com outros problemas de ordem fisiológica, a exemplo de deficiência nutricional e estresse hídrico, ou pela ocorrência de pragas e outras doenças. (Ritzinger & Ritzinger, 2005).

Com o desenvolvimento e expansão da cultura da aceroleira (*Malpighia emarginata* D. C.) no Brasil, a utilização dos porta-enxertos resistentes e tolerantes a patógenos habitantes de solo tornou-se uma necessidade. Em levantamentos realizados, em áreas produtoras no Brasil, foi identificado, como principal problema da aceroleira os nematóides do gênero *Meloidogyne*, já tendo sido identificadas as espécies *M. incognita* raças 1, 2, 3 e 4, *M. javanica* e *M. arenaria* raça 2 (Ferraz et al., 1989). Nas raízes, os sintomas caracterizam-se por engrossamentos e galhas e os sinais pela presença de massas de ovos (Ritzinger & Ritzinger, 2005).

A interação planta-patógeno envolve mecanismos bioquímicos onde os genes de alerta de defesa da planta são ativados resultando na síntese de novos compostos e no aumento da atividade enzimática (Moraes, 1998). Estudos isoenzimáticos são utilizados em casos de estresse biótico ou abiótico, por estarem relacionados ao entendimento das mudanças metabólicas e mecanismos de defesa desencadeados nas plantas (Torggler et al., 1995).

A técnica de eletroforese com isoenzimas, que é definida como diferentes formas moleculares de uma mesma enzima, que ocorrem num mesmo organismo, com afinidade por um mesmo substrato, fornece um meio de avaliação da variação genética. Existem, atualmente, muitas técnicas que ampliam o poder de detecção da variação genética ao nível de DNA. Entretanto as isoenzimas, que resultaram da expressão gênica, exibem um potencial enorme para a aplicação em genética de plantas (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Tal técnica é considerada de custo baixo e de ótimos resultados, outra vantagem é que os polimorfismos enzimáticos estão mais próximos da expressão fenotípica final do que os polimorfismos de DNA, por serem um produto intermediário da expressão do gene (Torggler et al., 1995).

Marcadores isoenzimáticos têm sido utilizados para avaliar alterações enzimáticas em plantas parasitadas por nematóides em vários patossistemas, estando esterase, fosfatase ácida e peroxidase entre as isoenzimas mais estudadas (Assis, 2006).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência e tolerância a *M. incognita* raça 2 e a atividade das isoenzimas esterase, fosfatase ácida e peroxidase em 18 genótipos de aceroleira.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Departamento de Agronomia da sede da UFRPE, onde foram testados 18 genótipos de aceroleira, sendo 17 do Banco Ativo de Germoplasma da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e uma matriz independente.

Estacas semilenhosas foram coletadas entre o 8^o e o 10^o nó, apresentando dois pares de folhas e dois internódios (Musser, 2001). As estacas foram mantidas em estufa para emissão do sistema radicular por 58 dias em substrato (areia lavada, carvão vegetal e esterco de galinha, na proporção 10:1:1 v/v). Posteriormente, as estacas foram transplantadas para sacos de polietileno de 20 x 25 cm, com capacidade para dois quilos contendo substrato comercial e solo fumigado com brometo de metila (3:1 v/v).

Avaliação dos genótipos quanto a resistência e tolerância ao nematóide

O inóculo foi preparado a partir de raízes de tomateiro infectadas por *M. incognita*, raça 2. Para tal, as raízes foram cuidadosamente retiradas do substrato, lavadas em água corrente e cortadas em pequenos fragmentos, seguindo-se a extração de ovos conforme a técnica descrita por Hussey & Barker (1973). Em seguida a suspensão foi imediatamente passada em peneiras de 200 e 500 Meshes, tipo “US Standard Series”. Os ovos retidos na peneira de 500 Meshes foram lavados em água corrente para remoção dos resíduos de hipoclorito de sódio e transferidos, com a ajuda de uma piceta, para um Becker de 100mL. Dessa suspensão retirou-se amostras para contagem dos ovos em caixas calibradas. A concentração da suspensão foi ajustada para 2.000 ovos/mL.

A inoculação dos nematóides foi realizada após 60 dias do plantio, através da disposição de 18.000 ovos por planta, colocados em três pequenas depressões de 2 cm de profundidade ao redor do colo da planta. Os tratamentos foram representados pelos genótipos sendo repetidos quatro vezes. As plantas receberam regas diárias. A técnica

adotada foi a mesma da obtenção do inoculo (Hussey & Barker, 1973). Dessa suspensão retiraram-se alíquotas para contagem dos ovos em caixas calibradas.

Os parâmetros avaliados após 60 dias da infecção dos genótipos em relação ao parasitismo por *M. incognita* foram: exame do sistema radicular avaliando o índice de galhas (IG) e índice de massa de ovos (IMO) através da escala de notas do International *Meloidogyne* Project (IMP), utilizada por Taylor & Sasser (1978). As reações dos hospedeiros foram enquadradas nos parâmetros estabelecidos por Sasser (1980). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial de 18 x 2 correspondendo a 17 genótipos e uma matriz independente e dois tratamentos de inoculação (com ou sem infestação de *M. incognita*) e quatro repetições. Cada parcela era formada por uma planta. Para avaliar a reprodução do nematóide foram estimados o número de ovos por sistema radicular (OSR) e o número de ovos por grama de raiz (OGR). Paralelamente foram determinadas a biomassa fresca relativa da parte aérea (BFRPA) e biomassa fresca relativa do sistema radicular (BFRSR), através da relação $BFRPA = BFPAL/BFPANI$ e $BFRSR = BFSRI/BFSRNI$. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias separadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Os dados de BFRPA e BFRSR foram transformados em $\sqrt{(x+1)}$ antes da análise, enquanto os dados de IMO, OSR e OGR foram transformados para $\log_{10}(x+1)$.

Análises isoenzimáticas

As análises isoenzimáticas foram conduzidas no Laboratório de Genética, do Departamento de Biologia da UFRPE, quando retirou-se 3 folhas em cada coleta, realizada a 0, 20, 40 e 60 dias após a infestação.

Para extração das enzimas foram usadas 0,3 g de folhas previamente lavadas em água corrente e o excesso de água retirado com papel toalha. Durante o processo de extração, as amostras permaneceram à baixa temperatura para evitar a desnaturação de proteínas e, conseqüentemente, perda da atividade enzimática. A trituração foi manual, em almofariz de porcelana com auxílio de nitrogênio líquido. Ao material macerado foram adicionados 2,5 mL de solução extratora [sacarose (0,2M) 2 g; PVP-40 (2,56%) 2 g; EDTA (5%) 1 g; 2-mercaptoetanol (0,2%) 1 mL e tampão A (1,2 g hidróxido de lítio, 11,89 g ácido bórico e 1000 mL de água destilada) e Tampão B (1,6 g ácido cítrico (0,008M), 6,6 g Tris (0,05M) e 1000 mL de água destilada) 2,5 mL (1 mL:9 mL)]. A

adição de sacarose e 2-mercaptanol tiveram por finalidade proteger as enzimas contra efeitos de metabólicos secundários liberados pela ruptura dos tecidos (Scandalios, 1969). As amostras foram centrifugadas a 2.000 rpm por 4 min. Alíquotas de 10 μ L de cada amostra foram aplicadas aos poços dos géis. Os géis de poliacrilamida a 7% AA/BIS (acrilamida e bis-acrilamida-solução estoque a 30%) foram preparados com a homogeneização de 17 mL da solução estoque de acrilamida e bis-acrilamida em 7 mL de tampão borato de lítio 0,2 M, pH 8,3 e 67 mL de tampão tris-citrato 0,2 M, pH 8,3. À mistura foram adicionados 75 μ L de TEMED (tetrametildiamina) e 0,75 mL de persulfato de amônia a 18%. Em seguida, a mistura foi vertida no molde de vidro até a polimerização completa e colocado numa cuba horizontal contendo tampão borato de lítio 0,2 M, fazendo-se uso de tecido perfex como ponte de conexão.

A migração eletroforética foi conduzida a 4°C, a um potencial de 40V, até que a linha de frente atingisse 7,0 cm em direção ao pólo positivo marcada com azul de Bromofenol. Para a resolução dos sistemas enzimáticos, adotaram-se os procedimentos baseados na metodologia proposta por Scandalios (1969) e/ou Alfenas (1998), com algumas modificações.

Para revelação de α -esterase (α -EST) os géis foram corados usando-se 3,0 mL de α -naftil acetato 1%, em acetona 50%; 40 mg de fast blue RR salt; 50 mL de tampão fosfato de sódio monobásico 0,2 M; pH 4,2; 10 mL de tampão fosfato de sódio dibásico 0,2 M; pH 9,2; e 40 mL de água destilada, sendo em seguida incubados por 2 horas, no escuro, a 30°C. Para a revelação de fosfatase ácida (ACP), fez-se uso de 100 mg de α -naftil fosfato ácido de sódio; 100 mg de fast garnet GBC salt; 1 mL de $MgCl_2$ a 1%; e 100 mL de tampão acetato de sódio 0,2 M; pH 5,0. Em seguida, os géis foram incubados a 30°C por 2 horas. O sistema peroxidase (PO) foi revelado usando-se 0,065 g de 3-amino-9-etilcarbazole; 5,0 mL de dimetilformamida; 2 mL de $CaCl_2$; 4 gotas de H_2O_2 a 30%; e 85 mL de tampão acetato de sódio 0,05 M; pH 5,0. A coloração ocorreu no escuro à temperatura de 30°C, por 2 horas. Nas cubas, para as corridas eletroforéticas, foi utilizado tampão borato de lítio 0,2 M; pH 8,3 para as três enzimas estudadas. Todos os géis, após a coloração, foram lavados, fixados (em solução contendo álcool metílico, ácido acético e água destilada na proporção de 1:1:1v/v) por 20 minutos, avaliados para a confecção dos zimogramas e em seguida fotografados.

A interpretação dos zimogramas foi realizada através da identificação de bandas em loci gênicos relacionados com o parasitismo. Os genótipos foram analisados usando-se o coeficiente de Nei & Li (1979), através do programa NTSYS- pc (*Numerical Taxonomy and Multivariater Analysis System*, versão 1.70, *Exeter software*, NY, USA) e a árvore filogenética gerada usando-se a opção *UPGMA (Unweighted Pair – Group Method, Arithmetic Average)*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação da relação do parasitismo do nematóide *M. incognita* raça 2, para as variáveis BFRPA e BFRSR (Tabela 1), não foi verificado diferença significativa possivelmente devido aos altos coeficientes de variação, mostrando assim que este parâmetro de avaliação não foi decisivo para a escolha de material, geneticamente resistente a *M. incognita* raça 2. Estes resultados confirmam os obtidos por Gomes et al. (2000), trabalhando com aceroleira e *M. javanica*.

De maneira geral os genótipos não diferiram em relação ao IG, IMO, OSR e OGR (Tabela 1), exceto o genótipo 018-CMF que apresentou IG<3, diferindo significativamente dos genótipos 005-APE, 025-CMF, 027-CMF e 041-CMF. O genótipo 023-CMF apresentou OSR significativamente menor do que 027-CMF e 035-CMF, sem diferir dos demais.

Com relação a resposta enzimática para os três sistemas estudados, α -esterase (α -EST), fosfatase ácida (ACP) e peroxidase (PO), observou-se um total de oito regiões de bandas eletroforéticas que foram identificadas e analisadas: cinco bandas para o sistema α -esterase; uma banda para o sistema fosfatase ácida e duas bandas para o sistema peroxidase. De acordo com Scandalios (1969), o sistema isoenzimático de esterase é constituído por um complexo e heterogêneo grupo de enzimas reativas com uma ampla gama de substratos específicos, sendo as variantes destas proteínas encontradas em plantas, geralmente monoméricas ou diméricas (Weeden & Wendel, 1990), com alto nível de variabilidade (Gillespie & Langley, 1974), constituindo-se um dos sistemas enzimáticos mais polimórficos. A classificação das esterases é feita de

acordo com suas afinidades para α naftil acetato, sua mobilidade em gel de acrilamida ou amido e sua seqüência de nucleotídeos (Hemingway & Karunaratine, 1998).

Para o sistema α -esterase (Figura 1), foram observados o máximo de cinco regiões de bandas anódicas, designadas α -Est-1, α -Est-2, α -Est-3, α -Est-4 e α -Est-5. Nos genótipos 001-SPE, 002-SPE e 003-APE foram reveladas as regiões α -Est-3 e α -Est-4 em todos os tratamentos, variando apenas na intensidade das mesmas aos 40 dias após a infecção, as quais apresentaram-se mais intensas.

Nas testemunhas, os genótipos 005-APE, 007-TPA, 015-CPA, 025-CMF, 026-CMF, 027-CMF, 035-CMF, 036-CMF, 041-CMF e a Matriz-PPE apresentaram as bandas α -Est-2 e α -Est-5; o genótipo 018-CMF apresentou a banda α -Est-5; o genótipo 023-CMF não revelou nenhuma banda; o genótipo 024-CMF revelou as bandas α -Est-2 e α -Est-4 e os genótipo 036-CMF e 046-CMF revelaram as bandas α -Est-1, α -Est-2 e α -Est-5.

Aos 20 dias de infestação do solo com o nematóide, nos genótipos 005-APE, 015-CPA, 018-CMF, 025-CMF, 036-CMF e a Matriz-PPE foi revelada apenas a banda α -Est-5 e nos genótipos 024-CMF e 033-CMF apenas a α -Est-2. Para os demais genótipos foram detectadas as bandas α -Est-2 e α -Est-4. Nas amostras coletadas aos 40 dias os genótipos 001-SPE, 002-SPE e 003-APE revelaram as bandas α -Est-3 e α -Est-4, e os demais genótipos revelaram as bandas α -Est-2 e α -Est-5.

Nas coletas efetuadas aos 60 dias, nos genótipos 005-APE, 018-CMF, 023-CMF, 026-CMF, 041-CMF, 046-CMF e a Matriz-PPE foram revelados as bandas α -Est-2 e α -Est-5, nos genótipos 015-CPA e 025-CMF observou-se somente a banda α -Est-5, no genótipo 007-TPA e 035-CMF foram reveladas as bandas α -Est-1, α -Est-2 e α -Est-5, no 024-CMF, as bandas α -Est-2, α -Est-4 e α -Est-5, nos 024-CMF e 027-CMF, as bandas α -Est-2, α -Est-4 e α -Est-5, no 035-CMF, as bandas α -Est-1, α -Est-2 e α -Est-5, e no 036-CMF, as bandas α -Est-4 e α -Est-5.

Os resultados observados por Gomes et al. (2004) confirmaram expressão de respostas de esterase em plantas de bananeira com estresse salino de cinco locos semelhante aos obtidos. Estudos realizados com citros revelaram expressão de esterase de apenas três locos, sendo menor do que os demais sistemas estudados (Oliveira & Radmann, 2005). A esterase é uma enzima envolvida em reações de hidrólise de ésteres,

estando diretamente ligada ao metabolismo dos lipídios, como os fosfolipídios totais de membrana (Santos et al., 2005).

A enzima fosfatase ácida (Figura 2), que tem função de hidrolisar os fosfomonoésteres de um grande número de reações químicas vegetais, entre elas, a formação de sacarose durante a fotossíntese (Tanksley, 1983), apresentou apenas uma região de banda (Acp-1), a qual não foi ativada nos genótipos 015-CPA, 036-CMF e na Matriz-PPE das testemunhas. Aos 20 dias com a presença do patógeno, os genótipos 015-CPA e 036-CMF mostraram bandas que voltaram a ter atividade e os genótipos 001-SPE e 002-SPE não demonstraram atividade. Aos 40 dias, o genótipo 002-SPE voltou a ter atividade e os 024-CMF, 025-CMF e 036-CMF não revelaram a Acp-1. Aos 60 dias, todos os genótipos revelaram a banda em questão. Este número de alelos expressos é inferior ao encontrado por outros autores, como Gomes et al. (2004), com três alelos, e Malone et al. (2006) com três e quatro alelos, ao estudarem padrões isoenzimáticos de fosfatase ácida em banana e arroz, respectivamente. Estudos realizados com plantas de alpinia, parasitadas por *M. incognita*, revelaram uma alta expressão de fosfatase ácida, que diferiu acentuadamente de plantas não parasitadas (Assis, 2006). A fosfatase ácida é considerada um excelente marcador devido a sua atividade para genes de resistência em plantas (Zhong et al., 1999), no entanto a participação dessa enzima na patogênese ou resposta da planta a infecção não está clara (Assis, 2006).

A peroxidase tem importante função metabólica na regulação iônica, ajuste osmótico e produção de NADPH, participa da fotorespiração e atua na fixação de CO₂, sendo cada função dependente da localização da enzima dentro da planta (mitocôndrias, peroxissomas ou cloroplastos) (Alfenas, 1998). A atividade desta enzima (Figura 3), nas plantas controle só revelou uma região de banda (Po1), entretanto sem atividade para os genótipos 001-SPE, 002-SPE, 003-APE, 005-APE, 007-TPA e 018-CMF. Nas coletas efetuadas aos 20 dias após a infestação do solo, os genótipos 001-SPE, 005-APE, 023-CMF, 035-CMF e a Matriz-PPE apresentaram atividade das bandas Po1 e Po2, os genótipos 002-SPE e 015-CPA revelaram a banda Po2 e os demais mostraram atividade da banda Po1.

Aos 40 dias de exposição ao solo infestado nos genótipos 001-SPE, 002-SPE, 007-TPA, 023-CMF, 035-CMF e 041-CMF foram reveladas as bandas Po1 e Po2, nos genótipos 005-APE, 015-CPA e a Matriz-PPE identificou-se a banda Po2 e nos demais a

banda Po1. Sessenta dias de exposição a presença do patógeno levou a ativação das bandas Po1 e Po2 nos genótipos 001-SPE, 007-TPA e 035-CMF, enquanto nos genótipos 002-SPE, 005-APE e 015-CPA somente a banda Po2 foi detectada e nos demais genótipos apenas a banda Po1.

Em estudos conduzidos por Lopes et al. (2002) foram expressos dois locos para peroxidase, quando avaliava a estimativa da taxa de cruzamento em aceroleiras. Mellon (1991) relata que alterações nos níveis de peroxidase e distribuição de isoformas são conhecidas por acompanhar processos de mecanismos de defesa dos hospedeiros a patógenos, como lignificação e suberização.

Quanto ao comportamento dos três sistemas isoenzimáticos estudados frente a resposta da planta à presença do patógeno, e considerando o genótipo 023-CMF, como o menos susceptível, constatou-se que no sistema esterase a presença do patógeno ativou as bandas α -Est-2 e α -Est-5 que não estavam presente na testemunha. No sistema peroxidase a presença do patógeno ativou a região de banda Po2, mas a mesma não foi ativa aos 60 dias após a inoculação no sistema fosfatase ácida, não sendo possível relacionar as bandas reveladas com a resposta da planta ao patógeno.

Na análise de agrupamento (Figura 4), foi observada a distribuição dos 18 genótipos em grupos de maior e menor proximidade genética. De acordo com o dendograma os genes expressos pelas isoenzimas analisadas permitiram separar os genótipos em dois grandes grupos. O primeiro formado pelos genótipos 001-SPE, 002-SPE, 003-APE, 005-APE, 015-CPA e a Matriz-PPE e o segundo formado pelos demais genótipos. No segundo grupo encontram-se, em subgrupos diferentes os genótipos 023-CMF, considerado o menos susceptível, e os genótipos 027-CMF e 035-CMF identificados como os mais susceptíveis, segundo a quantidade de ovos por sistema radicular (OSR).

Os índices de similaridade genética entre os genótipos expressos pela percentagem de variantes idêntica em cada par comparado, em relação ao número total encontrados são mostrados na Tabela 2. O menor índice de similaridade genética (0,115) foi observado entre os genótipos 002-SPE e 036-CMF. Os genótipos mais próximos geneticamente, com índice de similaridade 0,941 foram 027-CMF e 026-CMF, 046-CMF e 026-CMF e 041-CMF e 026-CMF.

As diferentes respostas dos genótipos expressas pela presença do patógeno, identificadas por avaliações morfológicas, fisiológicas e moleculares, mostrou que, mesmo pertencentes a mesma espécie botânica, apresentam alta variabilidade genética, ao ponto de possibilitar a indicação de genótipos resistentes a nematóides para futuros trabalhos de melhoramento genético da aceroleira.

CONCLUSÃO

Na análise da biomassa fresca relativa da parte aérea e do sistema radicular não foi encontrado diferença significativa, provavelmente devido o estudo ter sido feito em apenas um ciclo de reprodução do nematóide.

O genótipo 023-CMF, destacou-se como o mais tolerante a infecção por ovos do nematóide, podendo assim ser recomendado aos produtores de acerola.

AGRADECIMENTOS

A CAPES pela concessão da bolsa ao primeiro autor, ao Programa de Educação Tutorial (PET/MEC/SESu) e a UFRPE através do Programa de Pós-Graduação em Melhoramento Genético de Plantas e pela disponibilidade das equipes e dos Laboratórios de Fitonematologia e de Genética.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A. C. (Ed.). Eletroforeses de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. Viçosa: UFV, 1998. 574 p.

ASSIS, T.C. Fitonematóides associados a Zingiberales ornamentais em Pernambuco, determinação do número de amostras, efeito de indutores de resistência e avaliação de mecanismos envolvidos. 2006. 105p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2006.

CHOUDHURY, M. M.; CHOUDHURY, E.N. **Ocorrência de nematóides das galhas em aceroleira irrigada no Submédio São Francisco**. Petrolina, PE: EMBRAPA-CPATSA, 1992. 2p. (EMBRAPA-CPATSA. Comunicado Técnico, 50).

FERRAZ, L. C.C. B.; MONTEIRO, R. R.; INOMOTO, M. M., Hospedabilidade da acerola em relação a sete espécies de fitonematóides. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 13, p. 39-49, 1989.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3nd ed. Brasília. 1998.

GILLESPE, J. H. e LANGLEY, C. H. A general model to account for enzyme variation in natural populations. **Genetics**, v. 76, p.837-887, 1974.

GOMES, E.; DILERMANDO, P.; MARTINS, A. B. G.; FERRAUDO, A. S. **Análise de grupamentos e de componentes principais no processo seletivo em genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata*)**, Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 36-39, 2000.

GOMES, E. W. F.; WILLADINO, L.; MARTINS, L, S. S.; SILVA, S. O.; CÂMARA, T. R. Diplóides (AA) de bananeira submetidos ao estresse salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 525-531, 2004.

HEMINGWAY, J.; KARUNARATNE, S. H. P. P. Mosquito carboxylesterases: A review of the molecular biology and biochemistry of a major insecticide resistance mechanism. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 12, p. 1-12, 1998.

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

INTERNATIONAL BOARD PLANT GENETIC RESOURCES, 1986, Rome, Italy. *Malpighia emarginata* (Acerola). In: INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES, 1986, Rome, Italy. **Genetic resources of tropical and subtropical fruits and nuts (excluding musa)**. Rome, 1986, p. 52-54.

LOPES, R.; BRUCKNER, C. H.; LOPES, M. T. G. Estimação da taxa de cruzamento da aceroleira com base em dados isoenzimáticos. **Revista Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 3, p. 321-327. 2002.

MALONE, G.; ZIMMER, P. D.; CASTRO, A. S.; CARVALHO, I. L.; MENEGHELLO, G. E.; PESKE, S. T. Identificação do estágio adequado para realização de análises isoenzimáticas em arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, p.193-200. 2006.

MELLON, J. E. Purification and characterization of isoperoxidases elicited by *Aspergillus flavus* in cotton ovule cultures. **Plant Physiology**, New York, v. 95, p. 14-20, 1991.

MORAES, M. G. Mecanismos da resistência sistêmica adquirida em plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 6, p. 261-284, 1998.

MUSSER, R. S. **Caracterização de acessos de aceroleira (*Malpighia emarginata*) do Banco Ativo de Germoplasma da UFRPE em Pernambuco**. 2001. 143p. Tese (Doutorado)- Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2001.

NEI, M.; LI, W. H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v.76, 5269–5273p. 1979.

OLIVEIRA, R. P.; RADMANN, E. B. Genetic similarity of citrus fresh fruit market cultivars. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 27, n. 2, p. 332-334, 2005.

RITZINGER, C. H.; RITZINGER, R. Nematóides em acerola, Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas/BA. 2005. Disponível em: <http://www.boletimpecuario.com.br/artigos>. Acesso em: 23 mar. 2007.

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILELLA, F. A. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, p. 104-114. 2005.

SASSER, J. N. Root-knot nematodes; a global menace to crop production. **Plant Disease**, v. 64, p. 36-41, 1980.

SCANDALIOS, J. G. **Control of gene expression and enzyme differentiation**. In: SCANDALIOS, J.G. (Ed.). *Physiological genetics*, New York: Academic Press, 1979. p. 63-107.

TANKSLEY, S. D. **Isozymes**. Amsterdam: ElSevier, 1983, part. b., 472 p.

TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. *Biology identification and control of root-knot nematodes (Meloidogyne species)*. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 111p. 1978.

TIHOHOD, D. **Nematologia Agrícola Aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 372p. 1993.

TORGGLER, M. G. F.; CONTEL, E. P. B.; TORGGLER, S. P. Isoenzimas – variabilidade genética em plantas. Ribeirão Preto. **Sociedade Brasileira de Genética**, 1995, 175p.

WEEDEN, N. F.; WEEDDEL, J. F. Genetics of plant isozymes. In: SOLTIS, D.E. & SOLTIS, P.S. (Ed.). **Isozymes in plant biology**. London. Champman and Hall. p. 46-72. 1990.

ZHONG, X. B.; BODEAU, J.; FRANSZ, P. F.; WILLIAMSON, V. M.; VAN KAMMEN, A.; JONG, J. H.; ZABEL, P. FISH to meiotic pachytene chromosome of tomato locates the root-knot nematode resistance gene Mi-1 and the acid phosphatase gene Aps-1 near the junction of euchromatin and pericentromeric heterochromatin of chromosome arms 6S and 6L, respectively. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 98, p. 365-370, 1999.

Tabela 1 - Biomassa fresca relativa da parte aérea (BFRPA), biomassa fresca relativa do sistema radicular (BFRSR), índice de galhas (IG), índice de massa de ovos (IMO), índice de ovos por sistema radicular (OSR) e ovos por grama de raiz (OGR) de 18 genótipos de aceroleira inoculados com *M. incognita* raça 2 após 60 dias da infestação

GENÓ	B	B	IG	I	O	O
TIPO	FRPA	FRSR		MO	SR	GR
001-SPE (1)	0,83 a*	0,90 a	4,00 ab	2,63 a	11185,95 ab	1386,96 a
002-SPE (2)	1,33 a	2,00 a	3,93 ab	3,31 a	16788,80 ab	2665,44 a
003-APE (3)	0,89 a	1,67 a	4,65 ab	3,93 a	22156,35 ab	1397,55 a
005-APE (5)	2,92 a	5,17 a	5,00 a	4,65 a	41718,49 ab	7458,67 a
007-TPA (7)	1,50 a	1,66 a	4,48 ab	3,24 a	17055,38 ab	2180,57 a
015-CPA (15)	0,75 a	0,60 a	4,00 ab	2,46 a	3377,12 ab	3377,12 a
018-CMF (18)	1,33 a	0,90 a	2,91 b	2,30 a	3198,37 ab	602,17 a
023-CMF (23)	1,25 a	1,03 a	4,23 ab	2,72 a	2596,36 b	653,30 a
024-CMF (24)	2,94 a	2,00 a	4,65 ab	3,31 a	6129,55 ab	613,47 a
025-CMF (25)	1,19 a	2,11 a	5,00 a	3,93 a	28636,32 ab	3151,85 a
026-CMF (26)	1,50 a	1,33 a	4,00 ab	2,46 a	5291,37 ab	748,50 a
027-CMF (27)	1,10 a	1,37 a	5,00 a	3,95 a	65647,52 a	5503,71 a
033-CMF (33)	4,92 a	1,40 a	3,47 ab	3,00 a	6413,68 ab	1015,50 a
035-CMF (35)	1,22 a	0,96 a	4,48 ab	3,90 a	78183,88 a	11057,70 a
036-CMF (36)	1,27 a	1,58 a	4,48 ab	3,95 a	10350,43 ab	1322,72 a
041-CMF (41)	0,89 a	0,58 a	4,73 a	3,40 a	5961,19 ab	1002,64 a
046-CMF (46)	2,50 a	1,50 a	3,90 ab	2,46 a	17204,15 ab	2433,09 a
Matriz-PPE (M)	0,38 a	1,44 a	4,31 ab	4,00 a	50424,37 ab	6992,65 a
CV %	26,10	31,42	7,19	13,83	11,56	16,09

* Médias seguidas da mesma letra em cada coluna não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Os dados BFRPA e BFRSR foram transformados em $\sqrt{(x+1)}$, sendo apresentado os dados originais. Os dados IMO, OSR e OGR foram transformados em $\log_{10}(x+1)$, sendo apresentado os ant log dos dados originais.

Tabela 2 - Similaridade genética observada entre 18 genótipos de aceroleira obtidas pela expressão das isoenzimas α -esterase, fosfatase ácida e peroxidase, após 60 dias da infestação

GENÓTIPO	1	2	3	5	7	15	18	23	24	25	26	27	33	35	36	41	46	M
001-SPE (1)	1,000																	
002-SPE (2)	0,823	1,000																
003-APE (3)	0,722	0,667	1,000															
005-APE (5)	0,240	0,250	0,200	1,000														
007-TPA (7)	0,259	0,222	0,269	0,737	1,000													
015-CPA (15)	0,160	0,217	0,120	0,750	0,550	1,000												
018-CMF (18)	0,208	0,167	0,333	0,647	0,722	0,444	1,000											
023-CMF (23)	0,280	0,240	0,292	0,631	0,700	0,526	0,706	1,000										
024-CMF (24)	0,292	0,200	0,364	0,428	0,571	0,333	0,556	0,631	1,000									
025-CMF (25)	0,208	0,120	0,273	0,555	0,631	0,529	0,733	0,611	0,647	1,000								
026-CMF (26)	0,185	0,148	0,292	0,631	0,789	0,526	0,813	0,778	0,722	0,813	1,000							
027-CMF (27)	0,222	0,185	0,333	0,600	0,750	0,500	0,765	0,737	0,778	0,765	0,941	1,000						
033-CMF (33)	0,222	0,185	0,333	0,524	0,750	0,428	0,667	0,650	0,778	0,667	0,833	0,889	1,000					
035-CMF (35)	0,286	0,250	0,250	0,750	0,900	0,650	0,650	0,800	0,591	0,650	0,800	0,762	0,762	1,000				
036-CMF (36)	0,200	0,115	0,261	0,450	0,524	0,500	0,588	0,500	0,611	0,800	0,667	0,722	0,631	0,545	1,000			
041-CMF (41)	0,222	0,185	0,280	0,684	0,842	0,579	0,765	0,833	0,684	0,765	0,941	0,889	0,789	0,850	0,631	1,000		
046-CMF (46)	0,178	0,143	0,280	0,600	0,750	0,500	0,765	0,737	0,684	0,765	0,941	0,889	0,789	0,762	0,722	0,889	1,000	
Matriz-PPE (M)	0,208	0,120	0,120	0,647	0,550	0,625	0,529	0,611	0,474	0,625	0,611	0,579	0,500	0,650	0,588	0,667	0,579	1,000

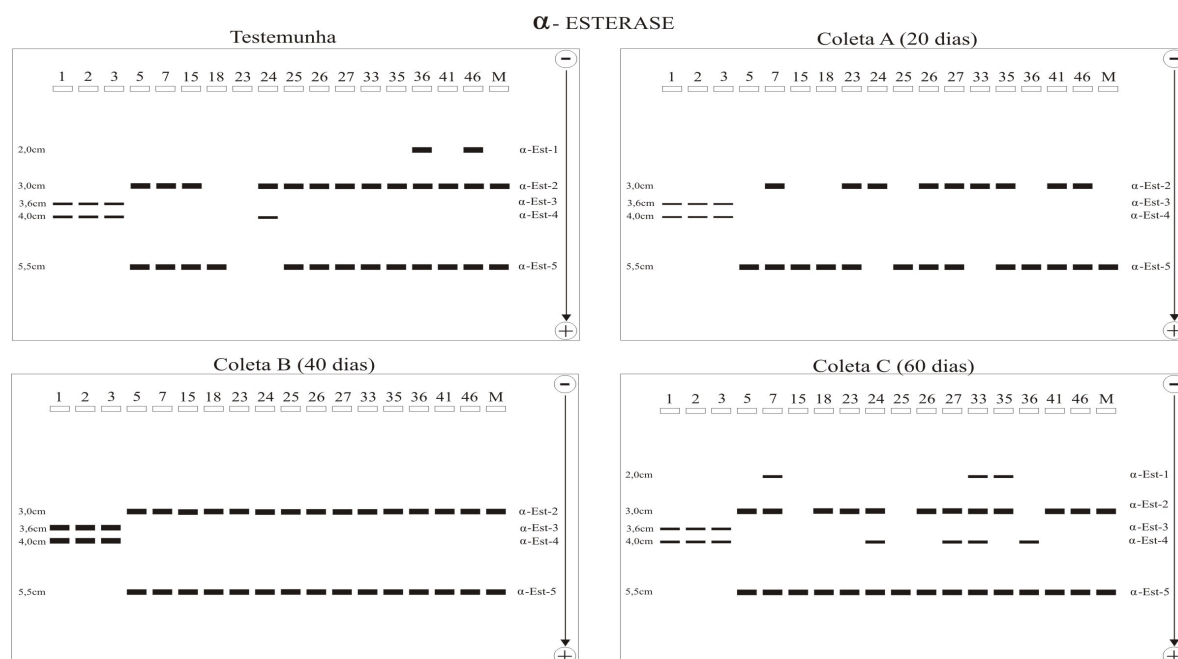


Figura 1 - Zimograma da isoenzima α-esterase de 18 genótipos de aceroleira [001-SPE(1); 002-SPE(2); 003-APE(3); 005-APE(5); 007-TPA(7); 015-CPA(15); 018-CMF(18); 023-CMF(23); 024-CMF(24); 025-CMF(25); 026-CMF(26); 027-CMF(27); 033-CMF(33); 035-CMF(35); 036-CMF(36); 041-CMF(41); 046-CMF(46) e Matriz-PPE(M)] parasitadas por *Meloidogyne incognita* raça 2, nos períodos de coleta A (20 dias), coleta B (40 dias) e coleta C (60 dias) após a infestação do solo.

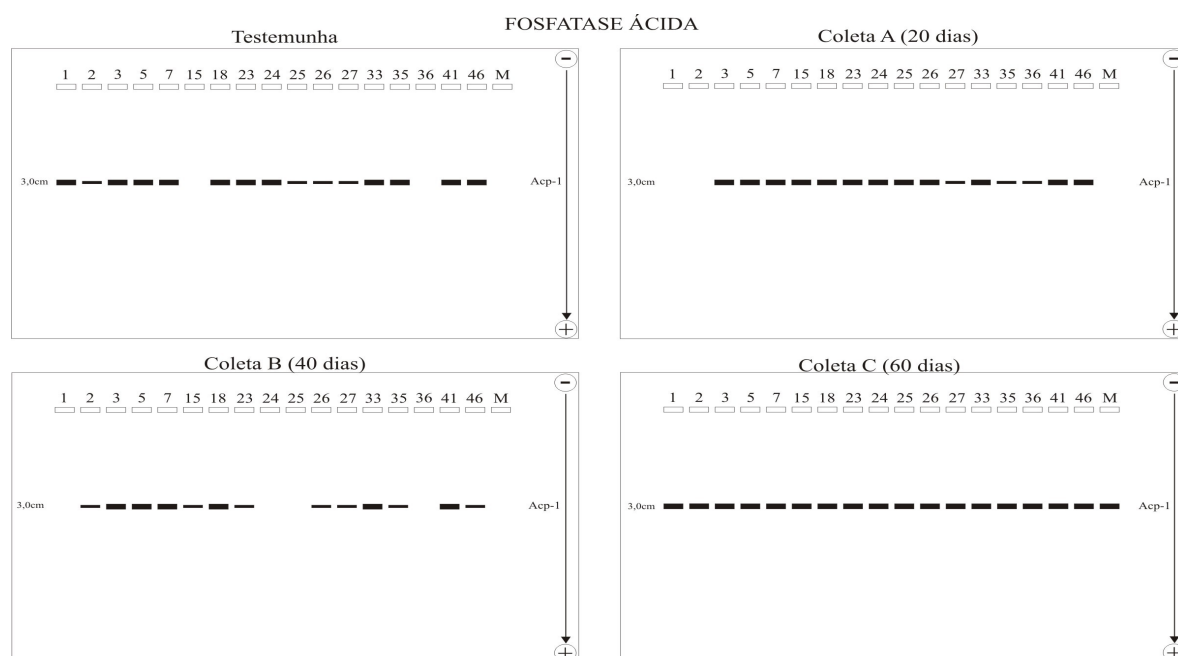


Figura 2 - Zimograma da isoenzima fosfatase ácida de 18 genótipos de aceroleira [001-SPE(1); 002-SPE(2); 003-APE(3); 005-APE(5); 007-TPA(7); 015-CPA(15); 018-CMF(18); 023-CMF(23); 024-CMF(24); 025-CMF(25); 026-CMF(26); 027-CMF(27); 033-CMF(33); 035-CMF(35); 036-CMF(36); 041-CMF(41); 046-CMF(46) e Matriz-PPE(M)] parasitadas por *Meloidogyne incognita* raça 2, nos períodos de coleta A (20 dias), coleta B (40 dias) e coleta C (60 dias) após a infestação do solo.

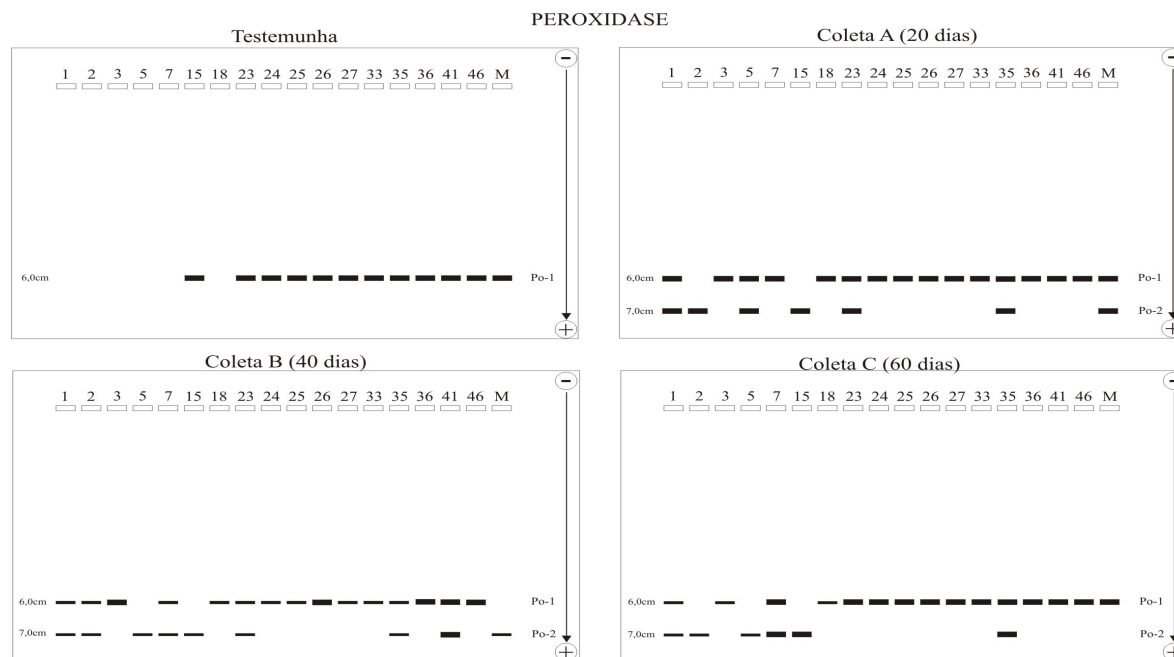


Figura 3 - Zimograma da isoenzima peroxidase de 18 genótipos de aceroleira [001-SPE(1); 002-SPE(2); 003-APE(3); 005-APE(5); 007-TPA(7); 015-CPA(15); 018-CMF(18); 023-CMF(23); 024-CMF(24); 025-CMF(25); 026-CMF(26); 027-CMF(27); 033-CMF(33); 035-CMF(35); 036-CMF(36); 041-CMF(41); 046-CMF(46) e Matriz-PPE(M)] parasitadas por *Meloidogyne incognita* raça 2, nos períodos de coleta A (20 dias), coleta B (40 dias) e coleta C (60 dias) após a infestação do solo.

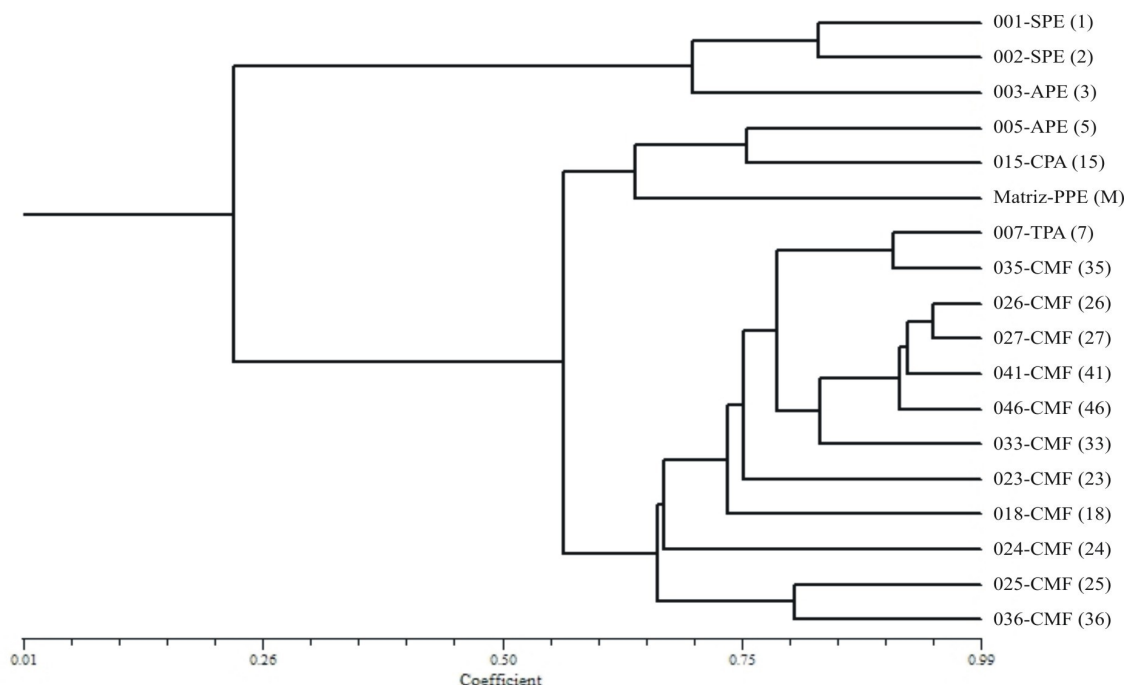


Figura 4 – Dendrograma de 18 genótipos de aceroleira, construído a partir dos produtos da revelação das isoenzimas α -esterase, fosfatase ácida e peroxidase, usando o método de agrupamentos UPGMA.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os estudos realizados e com as análises laboratoriais e estatísticas, podemos ressaltar que:

1. As estacas semi-lenhosas com 2 internódios e 2 pares de folhas mostram-se apropriadas ao enraizamento, sob estufa e sem utilização de fitohormônios para diversos genótipos;
2. Os genótipos 001-SPE, 002-SPE, 027-CMF, 035-CMF e 041-CMF são os mais precoces em relação ao enraizamento através de estacas semi-lenhosas, apresentando potencial para porta-enxerto de aceroleiras, nas condições deste trabalho;
3. Os demais genótipos estudados necessitariam do uso de fitohormônios para estimular o enraizamento, a depender do interesse em relação a outras características agronômicas, destinadas para porta-enxerto;
4. O ano de 2006, devido fatores climáticos, favoreceu a performance dos genótipos estudados para enraizamento, formação de calo e com índice de mortalidade baixo;
5. Na análise da biomassa fresca relativa da parte aérea e do sistema radicular não foi encontrado diferença significativa, provavelmente devido o estudo ter sido feito em apenas um ciclo de reprodução do nematóide;

6. Os 18 genótipos diferem na resistência ou suscetibilidade ao nematóide *M. incognita* raça 2;
7. O genótipo 027-CMF, é o mais suscetível para o índice de galhas e ovos por sistema radicular, enquanto o 023-CMF é o mais tolerante a infecção por ovos de *M. incognita* raça 2;
8. O estudo isoenzimático permitiu relacionar a expressão de determinadas enzimas com a tolerância dos genótipos ao patógeno;
9. Os genes expressos visualizados pelas isoenzimas analisadas permitiram inferir quanto a similaridade genética entre os genótipos estudados;
10. O genótipo 023-CMF, com taxa de enraizamento acima de 50%, destacou-se como o mais tolerante a infecção por ovos do nematóide, podendo assim ser recomendado aos produtores de acerola;
11. A variabilidade genética possibilita a indicação de genótipos resistente a nematóides para futuros trabalhos de melhoramento genético da aceroleira.

6. ANEXOS