

DIVERSIDADE GENÉTICA DE VARIEDADES COMERCIAIS DE MARACUJAZEIRO-AZEDO COM BASE EM MARCADORES MOLECULARES



Fábio Gelape Faleiro^{1*}, Nilton Tadeu Vilela Junqueira¹, Marcelo Fideles Braga¹, Graciele Bellon¹, José Ricardo Peixoto²

¹Embrapa Cerrados, CP 08223, 73310-970 Planaltina-DF; ²Universidade de Brasília
*e-mail: ffaleiro@cpac.embrapa.br

Cerrados

INTRODUÇÃO

A caracterização e exploração da variabilidade genética de espécies de *Passiflora*, e também, dentro da espécie do maracujazeiro-azedo, *P. edulis f. flavicarpa*, podem revelar recursos genéticos de grande valor, sejam novas variedades para os sistemas de produção ou utilização em programas de melhoramento genético. Além de espécies silvestres, a utilização de variedades comerciais em programas de melhoramento é necessária visando o fornecimento de genes relacionados à produtividade e qualidade dos frutos. Segundo Souza e Meletti (1997) é possível e recomendável utilizar a variabilidade genética natural da espécie comercial *P. edulis f. flavicarpa* em programas de melhoramento genético, com significativos ganhos genéticos.

Estudos mais aprofundados de caracterização agrônoma e molecular de variedades comerciais de maracujá são necessários e de grande interesse para o melhoramento genético, orientando a escolha de genitores e o planejamento dos cruzamentos. Estudos preliminares têm mostrado que existe pouca variabilidade genética entre as cultivares atuais para a resistência a doenças (Junqueira et al., 2003). Estudos de genótipos de maracujazeiro azedo cultivados no Rio de Janeiro, baseados em características morfo-agrônomicas e marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) também não mostraram expressiva variabilidade genética (Pio Viana et al., 2003).

OBJETIVO

Analisar a diversidade genética de variedades comerciais de maracujazeiro-azedo utilizadas em programas de melhoramento ou em avaliação agrônoma para sistemas de produção no Cerrado.



Figura 1. Roxo Australiano (A), Rubi (B), Marília Longo (C), Vermelhinho (D), GA-2 (E), Marília Seleção Cerrado (F), *Passiflora edulis* nativo (G).

RESULTADOS

Os 16 primers decâmeros geraram um total de 179 marcadores RAPD, perfazendo uma média de 11,2 marcadores por primer (Tabela 2). Dos 179 marcadores, apenas 36 (20,1%) foram monomórficos. A alta média de marcadores por primer e a baixa porcentagem de marcadores monomórficos evidenciam a variabilidade genética das variedades analisadas. As variedades que mais contribuíram para a alta variabilidade genética foram a 'Nativa do Cerrado' o Roxo Australiano. Faleiro et al. (2004) já haviam verificado a alta variabilidade genética e a importância de espécies nativas e silvestres de maracujá para programas de melhoramento genético visando a ampliação da variabilidade genética, principalmente para a resistência a doenças.

As distâncias genéticas entre as 12 variedades de maracujá variaram entre 0,066 e 0,474 (Tabela 1). As maiores distâncias genéticas (0,399 a 0,474) foram obtidas entre a variedade 'Nativa do Cerrado' e as variedades comerciais. Faleiro et al. (2005), com base em características morfológicas e moleculares, já haviam verificado as diferenças genéticas entre a variedade 'Nativa do Cerrado' e as variedades comerciais 'Gigante Amarelo' e 'Redondão'.

A variedade Roxo Australiano também apresentou altas distâncias em relação às demais variedades comerciais, variando de 0,138 a 0,414. Destas, a menor distância, de 0,138, foi em relação ao cv. Rubi, obtido por seleção em progênies do Roxo Australiano com a Marília Seleção Cerrado. As distâncias genéticas entre as variedades comerciais, desconsiderando a 'Nativa do Cerrado' e o 'Roxo Australiano' foram todas abaixo de 0,200, evidenciando o estreitamento da base genética. Junqueira et al. (2003) já haviam verificado que existe pouca variabilidade genética entre estas variedades comerciais para a resistência a doenças.

CONCLUSÕES

Os marcadores moleculares RAPD mostraram a importância da utilização das variedades 'Roxo' e 'Nativa do Cerrado' para a ampliação da base genética das variedades comerciais e ficou evidente a existência de variabilidade genética entre as variedades comerciais, o que é muito interessante para subsidiar futuros trabalhos de avaliação agrônoma dessas variedades, tendo em vista o lançamento de novas variedades ou sua utilização em programas de melhoramento genético.

MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais genéticos analisados no presente trabalho foram 12 variedades de maracujá sendo 10 *Passiflora edulis f. flavicarpa*, 1 *P. edulis edulis* e 1 *P. edulis f. rubra* (cv. Rubi) (Tabela 1). A Figura 1 ilustra alguns desses materiais. Folhas de cada variedade foram coletadas e o DNA genômico extraído utilizando o método do CTAB, com modificações (Faleiro et al., 2003). Amostras de DNA de cada material genético foram amplificadas pela técnica de RAPD.

As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 13 µL, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, MgCl₂ 3 mM, 100 µM de cada um dos desoxiribonucleotídeos (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 0,4 µM de um "primer" (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA), uma unidade da enzima Taq polimerase e, aproximadamente, 15 ng de DNA. Para obtenção dos marcadores RAPD foram utilizados 16 primers decâmeros: OPD (04, 07, 08, 10 e 16), OPE (18 e 20), OPF (01, 14 e 17), OPG (01, 08 e 17), OPH (12, 16 e 17). As amplificações foram efetuadas em termociclador programado para 40 ciclos, cada um constituído pela seguinte seqüência: 15 segundos a 94 °C, 30 segundos a 35 °C e 90 segundos a 72 °C. Após os 40 ciclos, foi feita uma etapa de extensão final de seis minutos a 72 °C, e finalmente, a temperatura foi reduzida para 4 °C. Após a amplificação, as amostras foram aplicadas em gel de agarose (1,2%), corado com brometo de etídio, submerso em tampão TBE (Tris-Borato 90 mM, EDTA 1 mM). A separação eletroforética foi de, aproximadamente, quatro horas, a 90 volts. Ao término da corrida, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta.

Os marcadores RAPD gerados foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os diferentes acessos, com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei & Li, utilizando-se o Programa Genes. A matriz de distâncias genéticas foi utilizada para realizar a análise de agrupamento com o auxílio do Programa Statistica, utilizando como critério de agrupamento o método do UPGMA. Com base na análise de agrupamento, diferentes grupos de similaridade foram definidos.

Análise de agrupamento realizada com base nas distâncias genéticas, permitiram subdividir as 12 variedades em, pelo menos, quatro grupos de similaridade genética (Figura 2). O maior grupo foi formado por 7 das 12 variedades. Dentro deste grupo pode-se verificar uma maior similaridade entre as duas variedades IAC e entre as variedades 'Rubi', 'Marília Seleção Cerrado' e 'Moranga'. O segundo maior grupo foi formado pelas variedades 'Gigante Amarelo' e a 'EC3-0' e 'Marília Longo'. Os dois outros grupos apresentam apenas uma variedade cada, o 'Roxo Australiano' e a 'Nativa do Cerrado'.

Tabela 1. Matriz de distâncias genéticas entre 12 variedades de maracujazeiro azedo, calculadas com base em 179 marcadores moleculares.

Variedades	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1 Pef 'Roxo Australiano'	-										
2 Pef 'Rubi'	0,138	-									
3 Pef 'Gigante Amarelo'	0,286	0,183	-								
4 Pef 'Marília Longo'	0,227	0,153	0,123	-							
5 Pef 'EC3-0'	0,226	0,145	0,087	0,121	-						
6 Pef 'Redondão'	0,182	0,124	0,180	0,140	0,132	-					
7 Pef 'Moranga'	0,167	0,090	0,155	0,137	0,138	0,095	-				
8 Pef 'Vermelhinho'	0,200	0,132	0,179	0,153	0,190	0,117	0,120	-			
9 Pef 'Marília Seleção Cerrado'	0,145	0,081	0,167	0,125	0,122	0,107	0,066	0,116	-		
10 Pef 'IAC-277'	0,178	0,091	0,158	0,145	0,136	0,169	0,111	0,123	0,091	-	
11 Pef 'IAC-275'	0,191	0,148	0,141	0,141	0,162	0,175	0,125	0,114	0,122	0,081	-
12 Pef 'nativo'	0,414	0,399	0,473	0,464	0,474	0,424	0,411	0,431	0,414	0,471	0,435

Pef - *Passiflora edulis edulis*
Pef - *Passiflora edulis f. rubra*
Pef - *Passiflora edulis f. flavicarpa*

Tabela 2. Primers utilizados para obtenção dos marcadores RAPD e respectivos número de bandas polimórficas e monomórficas.

Primer	Seqüência 5' → 3'	Nº de bandas polimórficas	Nº de bandas monomórficas
OPD-08	GTGTGCCCA	9	2
OPD-16	AGGGCGTAAG	10	1
OPE-18	GGACTGCAGA	10	2
OPF-14	TGCTGCAGGT	12	5
OPG-08	TCACGTCAC	14	1
OPG-17	ACGACCGACA	10	4
OPH-12	ACGGCGATGT	7	1
OPH-16	TCTCAGCTGG	18	1
OPH-17	GACTCTCCTC	4	4
OPD-04	TCTGTCAGG	11	2
OPD-07	TTGGCAGGG	7	3
OPD-10	GGTCTACACC	9	3
OPE-20	AAOGTGTACC	2	4
OPF-01	ACGGAATCTG	7	0
OPF-17	AACCGGGAA	12	2
OPG-01	CTACGGAGGA	1	1
TOTAL		143	36

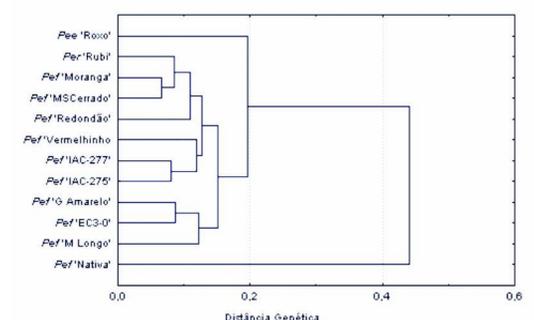


Figura 2. Análise de agrupamento de 12 variedades de maracujazeiro azedo com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 179 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento.

LITERATURA CITADA

- FALEIRO, F.G.; FALEIRO, A.S.G.; CORDEIRO, M.C.R.; KARIA, C.T. Metodologia para operacionalizar a extração de DNA de espécies nativas do cerrado. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003. (Comunicado Técnico N°92) 6p.
- FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BELLON, G.; BORGES, T.A.; ANJOS, J.R.N.; PEIXOTO, J.R.; BRAGA, M.F.; SANTOS, D.G. Diversidade genética de espécies silvestres de maracujazeiro com resistência múltipla a doenças com base em marcadores RAPD. Fitopatologia Brasileira, v. 29, (Supl.), p. S325, 2004.
- FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.; BELLON, G.; LAGE, D.A.C.; FERREIRA, U.O.C.; SANTOS, J.B. Caracterização molecular e morfológica da espécie *Passiflora edulis f. flavicarpa* silvestre no cerrado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 3., 2005, Passo Fundo. Anais. CD-ROM (Artigo 7398), 2005.
- JUNQUEIRA, N.T.V.; ANJOS, J.R.N.; SILVA, A.P.O.; CHAVES, R.C.; GOMES, A.C. Reação às doenças e produtividade de onze cultivares de maracujá-azedo cultivadas sem agrotóxico. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.38, n.8, p. 1005-1010, 2003.
- PIO VIANA, A.; PEREIRA, T.N.S.; PEREIRA, M.G.; SOUZA, M.M.; MALDONADO, F.; AMARAL JÚNIOR, A.T. Diversidade entre genótipos de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) e entre espécies de passifloras determinada por marcadores RAPD. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 25, p. 489-493, 2003.
- SOUZA, J.S.I. e MELETTI, L.M.M. Maracujá: espécies, variedades, cultivo. Piracicaba: FEALQ, 1997. 179p.