

UTILIZAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES EM RETROCRUZAMENTOS VISANDO A RESISTÊNCIA DO MARACUJAZEIRO-AZEDO A MÚLTIPLAS DOENÇAS

Fábio Gelape Faleiro^{1*}, Nilton Tadeu Vilela Junqueira¹, Graciele Belon², Luise Loticci Kralh³, José de Ribamar Nazareno dos Anjos¹, José Ricardo Peixoto³, Marcelo Fideles Braga¹, Alexandra Maria Rezende⁴

¹Embrapa Cerrados, Caixa Postal 08223, CEP 73310-970, Planaltina-DF; ²UPIS-Faculdades Integradas; ³Universidade de Brasília; ⁴Centro Universitário do Triângulo

* e-mail: ffaleiro@cpac.embrapa.br

INTRODUÇÃO

Plantações comerciais de maracujá-azedo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) vem sendo atacadas por doenças causadas por vírus (virose do amadurecimento do fruto PWV), por fungos (antracnose, fusariose, verrugose e septoriose) e pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (Junqueira et al., 2003). Essas doenças, em conjunto, depreciam a qualidade do fruto diminuindo seu valor comercial e reduzem a produtividade e a longevidade da cultura. Na Figura 1 ilustra-se algumas das principais doenças do maracujazeiro.

O uso de cultivares resistentes associado a outras técnicas de manejo integrado é a medida mais eficaz, econômica e ecológica de controle de doenças. O desenvolvimento de cultivares resistentes a doenças é estratégico para a cultura do maracujá visando a redução de custos de produção, segurança de trabalhadores agrícolas e consumidores, qualidade mercadológica, preservação do ambiente e sustentabilidade do agronegócio.

Espécies silvestres de maracujá nativas e espontâneas no Cerrado são alternativas para a ampliação da base genética da resistência, entretanto, trabalhos de melhoramento genético são necessários para combinar a resistência com características de produtividade e qualidade de frutos. O método dos retrocruzamentos tem sido muito utilizado para incorporação de genes de resistência em variedades comerciais e, marcadores moleculares têm sido ferramentas úteis em tais programas (Openshaw et al., 1994; Faleiro et al., 2001). Na Figura 2 ilustra-se algumas etapas e infra-estrutura do programa de melhoramento genético realizado na Embrapa Cerrados.

OBJETIVO

Analisar o potencial dos marcadores moleculares RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) como ferramenta auxiliar ao programa de melhoramento por retrocruzamentos visando a resistência do maracujazeiro a múltiplas doenças realizado na Embrapa Cerrados.

MATERIAL E MÉTODOS

Cruzamentos inter-específicos envolvendo a variedade comercial *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* cv. Gigante Amarelo e espécies silvestres *P. setacea*, *P. coccinea*, *P. caerulea* foram realizados e marcadores moleculares utilizados para confirmar a fecundação cruzada.

Retrocruzamentos utilizando a variedade comercial como recorrente foram iniciados. Avaliou-se o potencial uso dos marcadores moleculares para acelerar a recuperação do genoma recorrente. O programa de retrocruzamentos foi dividido em quatro subprogramas: SP1 (*P. edulis* X *P. setacea*), SP2 (*P. edulis* X *P. coccinea*), SP3 (*P. edulis* X *P. caerulea*) e SP4 (*P. coccinea* X *P. setacea* X *P. edulis*). Para cada material genético de cada subprograma (genitores, plantas F₁ e plantas RC) foram obtidos, pelo menos, 100 marcadores RAPD.

Os marcadores RAPD gerados foram convertidos em matrizes de dados binários, a partir das quais foram estimadas as distâncias genéticas relativas entre os diferentes acessos e também com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei & Li, utilizando-se o Programa Genes (Cruz, 1997). A matriz de distâncias genéticas foi utilizada para realizar a análise de agrupamento por meio de dendrograma, utilizando-se o método do UPGMA (*Unweighted pair-group arithmetic average*) como critério de agrupamento.

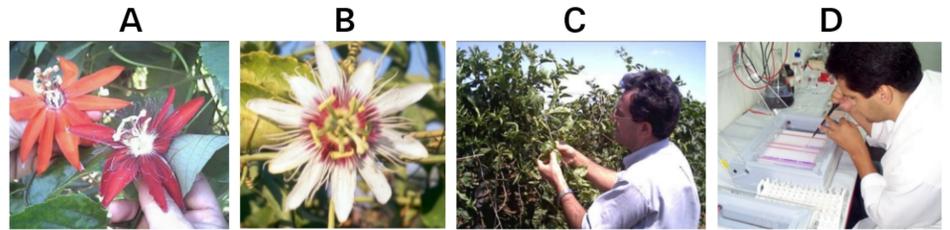


Figura 2. Ilustrações da obtenção de populações mediante cruzamentos inter-específicos (A e B), avaliação de doenças (C) e obtenção de marcadores moleculares (D) realizadas na Embrapa Cerrados.

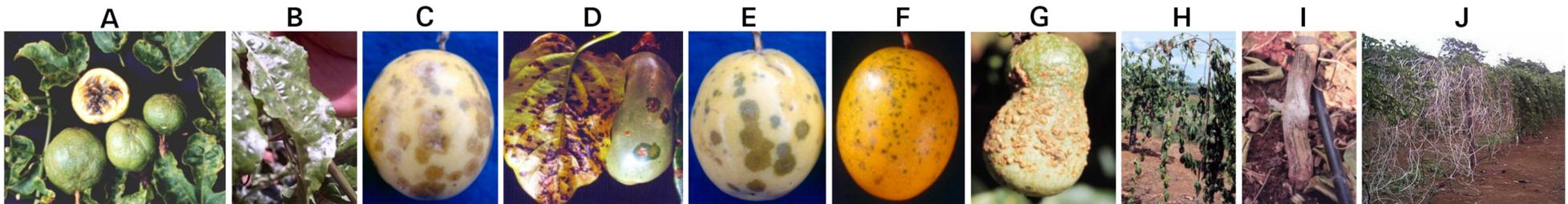


Figura 1. Principais doenças do maracujazeiro: virose (A e B), bacteriose (C e D), antracnose (E), septoriose (F), verrugose (G), fusariose (H e I) e morte precoce (J).

RESULTADOS

Análises de marcadores RAPD informativos mostraram-se úteis na confirmação da fecundação cruzada. Na Figura 3 mostra-se a análise de bandas informativas na confirmação da fecundação cruzada. Nota-se que, na análise, foram incluídas as amostras dos possíveis pais. Tal procedimento é importante por causa da possibilidade de haver polimorfismo intra-específico. A utilidade dos marcadores moleculares para a confirmação da fecundação cruzada foi verificada em todos subprogramas.

As distâncias genéticas entre acessos do Subprograma 1 em relação ao genitor recorrente (*P. edulis*) calculadas com base em marcadores RAPD evidenciam o potencial e a utilidade dos marcadores moleculares para acelerar a recuperação do genoma recorrente (Tabela 1). Com o avanço das gerações de retrocruzamentos, há uma diminuição da distância genética em relação ao genitor recorrente (Tabela 1, Figuras 4 e 5).

A escolha dos acessos geneticamente mais próximos do genitor recorrente a cada geração de retrocruzamentos (Figura 4) pode acelerar a recuperação do genoma recorrente. Segundo Openshaw et al. (1994), considerando uma espécie com genoma de 200 cM distribuídos em 10 cromossomos, é possível reduzir o número de ciclos de retrocruzamento de sete para três e recuperar 99% do genoma recorrente, utilizando-se 80 marcadores para genotipar 50 plantas a cada ciclo de retrocruzamentos. Faleiro et al. (2001a) utilizaram a metodologia descrita para acelerar a introdução de genes de resistência à ferrugem e à antracnose em um cultivar de feijoeiro-comum, o que foi conseguido, com sucesso, depois de três ciclos de retrocruzamentos. W

CONCLUSÕES

Análises de fingerprinting, distâncias genéticas e de agrupamento evidenciaram o potencial e a utilidade dos marcadores moleculares para confirmação da fecundação cruzada e para acelerar a recuperação do genoma recorrente e, em consequência, o desenvolvimento de variedades de maracujazeiro com resistência múltipla a doenças.



Figura 3. Uso de marcadores moleculares RAPD para a confirmação da fecundação cruzada entre espécies de *Passiflora*.

Tabela 1. Distâncias genéticas e número de bandas polimórficas entre acessos do Subprograma 1 de retrocruzamentos e o genitor recorrente *P. edulis*.

Acessos Subprograma 1	DGNL	NBP	DGR
Pe	0,000	0	0
Ps	0,622	79	100,0
Ps X Pe F1 P1	0,306	38	49,1
Ps X Pe F1 P2	0,282	33	41,8
Ps X Pe X Pe RC1 P1	0,176	24	30,4
Ps X Pe X Pe RC1 P2	0,181	26	32,9
Ps X Pe X Pe X Pe RC2 P1	0,098	13	16,5
Ps X Pe X Pe X Pe RC2 P2	0,104	14	17,7
Ps X Pe X Pe X Pe RC2 P3	0,122	17	21,5
Ps X Pe X Pe X Pe X Pe RC3 P1	0,106	14	17,7
Ps X Pe X Pe X Pe X Pe RC3 P2	0,101	14	17,7
Ps X Pe X Pe X Pe X Pe RC3 P3	0,081	11	13,9

DGNL - Distância genética baseada no complemento do coeficiente de similaridade de Nei & Li
NBP - Número de bandas polimórficas
DGR - Distância genética relativa (%)
Pe - *Passiflora edulis*
Ps - *Passiflora setacea*
P - Planta

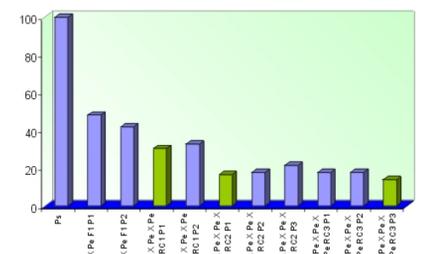


Figura 4. Distâncias genéticas relativas (%) de acessos de maracujazeiro do Subprograma 1 em relação ao genitor recorrente *P. edulis*. Os acessos em verde exemplificam os acessos a serem selecionados para o avanço das gerações de retrocruzamentos.

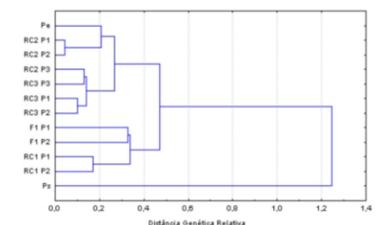


Figura 5. Análise de agrupamento de 12 acessos de maracujazeiro do Subprograma 1, baseada na matriz de distâncias genéticas calculadas usando 106 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento.

LITERATURA CITADA

FALEIRO, F. G.; RAGAGNIN, V. A.; CARVALHO, G. A.; PAULA JR., T. J.; MOREIRA, M. A. & BARROS, E. G. Development of common bean lines resistant to rust and anthracnose by molecular markers-assisted backcrossing. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative*, v. 44, p. 109-110. 2001.
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*, v. 38, n. 8, p. 1005-1010, 2003.
OPENSHAW, S. J.; JARBOE, S. G.; BEAVIS, W. D. Marker-assisted selection in backcross breeding. In: R. LOWER (ed.). *ASHS/CSSA Joint Plant Breeding Symposium on Analysis of Molecular Marker Data*, Oregon State University, Corvallis, 1994. p. 41-43.