IX SIMPÓSIO Nacional Cerrado
Desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais
12 a 17 de outubro de 2008
ParlaMundi, Brasília, DF

II SIMPÓSIO Internacional Savanas Tropicais

VARIABILIDADE GENÉTICA DE MARACUJAZEIRO OBTIDO EM PLANTAÇÕES COMERCIAIS DO DISTRITO FEDERAL COM BASE EM MARCADORES RAPD

Ana Paula Gomes de Castro[2], Fábio Gelape Faleiro[1], Kenia Gracielle da Fonseca[1], Ednalva Patrícia de Andrade[2], Gracielle Bellon[1], Nilton Tadeu Vilela Junqueira[1], Marina de Fátima Vilela[1], Alexandre Moura Cintra Goulard[1], Juvenil Enrique Cares[2] ([1]*Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, 73010-970 Planaltina, DF. e-mail*: *anapgcastro@yahoo.com.br* [2]*Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, 70910-900 Brasília, DF*). Auxílio financeiro: CAPES, CNPq

Termos para indexação: maracujazeiro, marcadores moleculares, variedades comerciais, variabilidade genética

Introdução

O maracujá, no Brasil, gera R$500 milhões anuais, emprega 250.000 pessoas e pode gerar de 5 a 6 empregos diretos e indiretos por hectare durante 2 anos, com apenas R$12.000,00 de investimentos, fazendo com que tal cultura seja uma excelente alternativa para o agronegócio (Lima, 2001). No Distrito Federal e Região do Entorno, o maracujá, principalmente o maracujá-azedo, é cultivado por pequenos e médios agricultores com produtividades médias em torno de 12 ton/ha/ano. Esta produtividade está bem abaixo daquelas obtidas por variedades geneticamente melhoradas obtidas pelos Programas de Melhoramento Genético realizados na Embrapa Cerrados. Apesar das baixas produtividades, o Brasil é atualmente, o maior produtor e o maior consumidor de maracujá do mundo (Faleiro *et al*., 2008).

A base de qualquer programa de melhoramento genético é a variabilidade genética. Estudos desta variabilidade em plantações comerciais de espécies essencialmente alógamas como o maracujá podem revelar recursos genéticos de grande valor, com relação a características agronômicas relacionadas à produtividade, adaptabilidade e resistência a doenças. Segundo Junqueira *et al*. (2003), estudos em populações comerciais de maracujazeiro-azedo têm mostrado que existe pouca variabilidade genética quanto à resistência a doenças. De acordo com Viana *et al.* (2003), estudos de genótipos de maracujazeiro-azedo cultivados no Rio de Janeiro, baseados em características morfo-agronômicas e marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) também não mostraram expressiva variabilidade genética. Por outro lado, Faleiro *et al*. (2005), também utilizando marcadores RAPD, verificaram a existência de variabilidade genética entre

variedades comerciais, subsidiando trabalhos de seleção em plantações comerciais, tendo em vista a utilização desses materiais em programas de melhoramento genético.

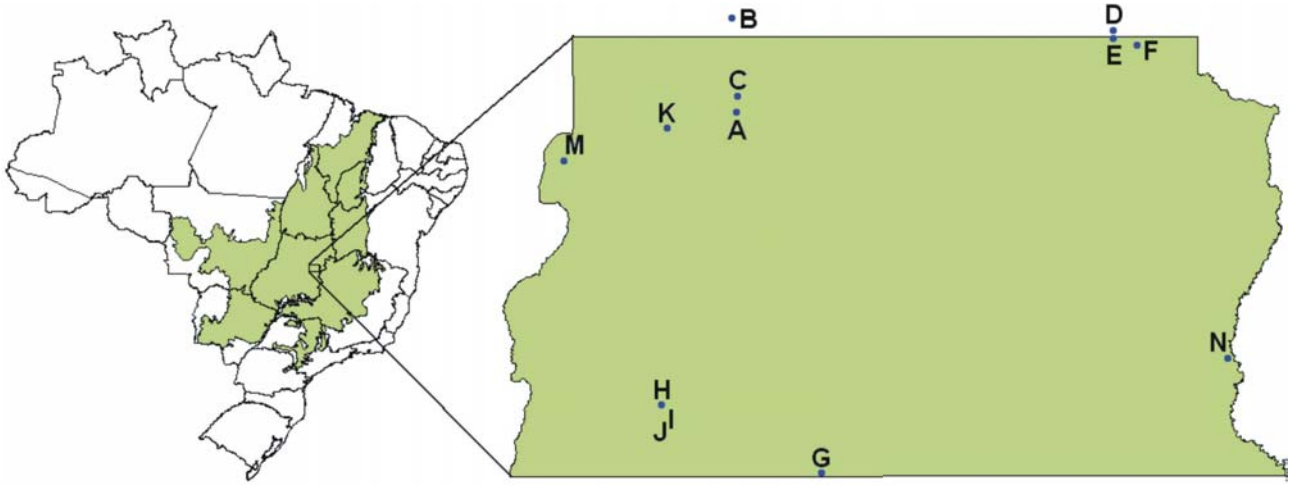
No Distrito Federal, plantações comerciais de maracujazeiro têm sido atacadas por várias pragas e doenças e, considerando a existência de variabilidade genética e a pressão de seleção natural das plantas pelos fitopatógenos, é possível a identificação de recursos genéticos valiosos para trabalhos de melhoramento visando ao desenvolvimento de variedades recomendadas para a região. Considerando tal possibilidade, neste estudo, objetivou-se confirmar e quantificar a variabilidade genética de maracujazeiro em plantações comerciais do Distrito Federal, fazendo uma comparação com os atuais híbridos de maracujazeiro lançados pela Embrapa.

Material e Métodos

Os materiais genéticos analisados no presente trabalho foram 25 acessos de maracujazeiro-azedo representando 25 plantações comerciais de 14 propriedades do Distrito Federal. Também foram analisados os três híbridos de maracujazeiro-azedo, recentemente lançados pela Embrapa (BRS Sol do Cerrado, BRS Ouro Vermelho e BRS Gigante Amarelo) e dois acessos de maracujazeiro-doce, utilizados como *out group* (Figura 1).

Folhas de cada um dos acessos foram coletadas e o DNA genômico extraído utilizando o método do CTAB, com modificações (Faleiro *et al*., 2003). Amostras de DNA de cada acesso 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 desoxiribonucleotídios (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 ºC, 30 segundos a 35 ºC e 90 segundos a 72 ºC. Após os 40 ciclos, foi feita uma etapa de extensão final de seis minutos a 72 ºC e, finalmente a temperatura foi reduzida para 4 ºC. Após a amplificação, foram adicionados, a cada amostra, 3 µl de uma mistura de azul de bromofenol (0,25%) e glicerol (60%) em água. Essas 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.



Acessos	Local	Nome da Propriedade
1	A	Núcleo Rural Lago Oeste (NRLO) – Rua 18
2		
3		
4*		
5		
6*		
7		
8	B	NRLO- Chácara 480
9	C	NRLO - Chácara 14
10	D	Faz. Santa Maria
11	E	Núcleo Rural Pipiripau (NRP)- Chácara 2 irmãos
12	F	NRP - Faz. Paraná
13		
14		
15		

Acessos	Local	Nome da Propriedade
16	G	Gama - Faz. Cerradinho
17	H	Gama - Chácara Ipê amarelo
18	I	Núcleo Rural Taguatinga
19	J	Gama - Chácara Paloma
20	K	Brazlândia - Faz. Manga Rosa
21	L	Brazlândia - Núcleo Rural Alexandre Gusmão
22	M	Brazlândia - MOA
23	N	Paranoá - Sítio Vale dos Pássaros
24		
25		
26		
27		Maracujá – Comércio Local
28		BRS Gigante Amarelo
29		BRS Ouro Vermelho
30		BRS Sol do Cerrado

* Acessos de *Passiflora alata* (out group)

Figura 1. Acessos de maracujazeiros avaliados pela técnica de RAPD e respectivos pontos de coleta em plantações comerciais no Distrito Federal e entorno (1 a 26), no comércio local (27) e em híbridos lançados recentemente pela Embrapa Cerrados (28 a 30).

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 e Li, utilizando-se o Programa Genes (Cruz, 1997). A matriz de distâncias genéticas foi utilizada para realizar as análises de agrupamento com o

auxílio do Programa Statistica (Statsoft Inc., 1999), utilizando como critério de agrupamento o método do UPGMA. Ainda com base na matriz de distâncias genéticas, foi realizada a dispersão gráfica baseada em escalas multidimensionais usando o método das coordenadas principais, com auxílio do Programa SAS e Statistica (Statsoft Inc., 1999).

Resultados e Discussão

Os 10 *primers* decâmeros geraram um total de 99 marcadores RAPD, perfazendo uma média de 9,9 marcadores por *primer*. Dos 99 marcadores, 91 foram verificados nos acessos de maracujazeiro-azedo e apenas 18 (19,78%) foram monomórficos. A alta média de marcadores por *primer* e a baixa percentagem de marcadores monomórficos evidenciam a variabilidade genética dos acessos analisados. Este resultado está de acordo com Faleiro *et al*. (2005) que também verificaram variabilidade genética em algumas variedades comerciais de maracujá, daí a importância desses materiais para a ampliação da variabilidade genética dos programas de melhoramento do maracujazeiro.

As distâncias genéticas entre os 28 acessos de maracujazeiro variaram entre 0,033 e 0,438 (Dados não apresentados). As maiores distâncias genéticas foram verificadas entre o híbrido BRS Ouro Vermelho e os demais acessos. Esta observação é respaldada pelo envolvimento de espécies silvestres na genealogia e no desenvolvimento deste híbrido. Bellon *et al*. (2005), analisando acessos comerciais e silvestres de *P. edulis*, verificaram que os acessos silvestres foram os que mais contribuíram para a ampliação da base genética. Distâncias genéticas elevadas também foram verificadas entre os acessos de maracujazeiro-doce e os acessos de maracujazeiro-azedo, respaldando a técnica de RAPD utilizada para quantificar a variabilidade genética.

A análise de agrupamento realizada com base nas distâncias genéticas (Figura 2), permitiriu a separação dos dois acessos de maracujazeiro-doce (*out group*) e a formação de vários grupos de acessos, evidenciando a variabilidade genética entre os mesmos. Chama a atenção o grupo formado entre o híbrido BRS Ouro Vermelho e o acesso coletado no Sítio Vale dos Pássaros. Este agrupamento é justificado pela montagem de unidades demonstrativas da Embrapa Cerrados nesta propriedade com os híbridos recentemente lançados pela Embrapa, incluindo o BRS Ouro Vermelho.

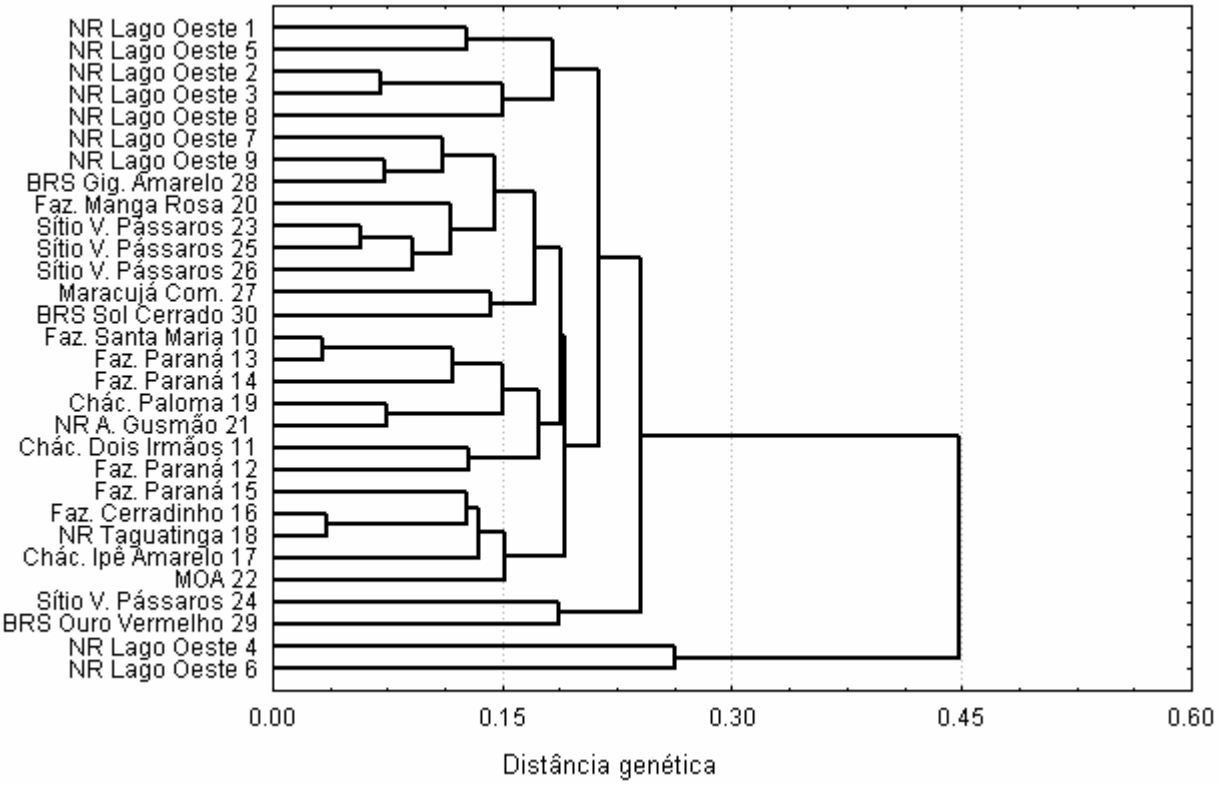


Figura 2. Análise de agrupamento de 30 acessos de maracujazeiro, obtidos em plantações comerciais do Distrito Federal e entorno (1 a 26), no comércio local (27) e de híbridos lançados pela Embrapa Cerrados (28 a 30), com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando 99 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento. Os números correspondem aos acessos da Figura 1

O gráfico de dispesão (Figura 2) também construído com base na matriz de distâncias genéticas entre os acessos também evidencia a separação dos dois acessos de maracujazeiro-doce. O posicionamento gráfico do híbrido BRS Ouro Vermelho confirma a maior contribuição deste material para a variabilidade genética dos materiais comerciais de maracujazeiro-azedo. A dispersão dos demais acessos evidencia as diferentes origens genéticas dos materiais utilizados pelos produtores de maracujá do Distrito Federal.

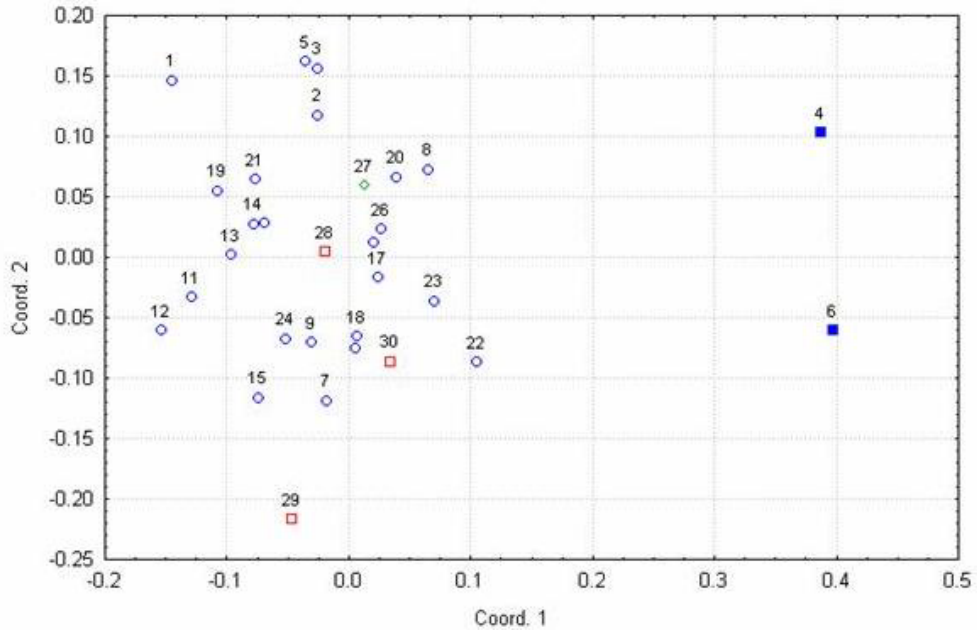


Figura 2. Dispersão gráfica de 30 acessos de maracujazeiro, obtidos em plantações comerciais do Distrito Federal e entorno, no comércio local e Embrapa Cerrados, com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando 99 marcadores RAPD. Os números correspondem aos acessos da Figura 1, sendo híbridos lançados pela Embrapa Cerrados (□), acesso comercial (◊), maracujazeiro-azedo (○) e maracujazeiro-doce (■).

Conclusões

Com base nos marcadores moleculares RAPD foi possível analisar e quantificar a variabilidade genetica entre os acessos de maracujazeiro de plantações comerciais do Distrito Federal. Este resultado subsidia futuros trabalhos de seleção de recursos genéticos com importantes genes relacionados à produtividade, adaptabilidade e resistência a doenças, valiosos para trabalhos de melhoramento visando ao desenvolvimento de variedades recomendadas para a região.

Referências bibliográficas

BELLON, G.; FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, K.P.; PAULA, M.S.; BRAGA, M.F.; JUNQUEIRA, N.T.V.; PEIXOTO, J.R. **Diversidade genética de acessos comerciais e silvestres de maracujazeiro-doce com base em marcadores RAPD**. *In :* Faleiro, F.G.; Junqueira, N.T.V.; Braga, M.F.; Pinto, A.C.Q.; Sousa, E.S. (Eds.) IV Reunião Técnica de Pesquisas em Maracujazeiro – Trabalhos apresentados. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 118-121.

CRUZ, C.D. **Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística.** Viçosa: UFV. 442p. 1997.

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, (Comunicado Técnico N$^{o.}$92) 6p. 2003.

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, p. S325, 2004.

FALEIRO, F.G., JUNQUEIRA, N.T.V. e BRAGA, M.F. Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro – Desafios da pesquisa. In: FALEIRO, F.G., JUNQUEIRA, N.T.V. e BRAGA, M.F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 187-210, 2005.

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.

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. **Pesquisa e desenvolvimento do maracujá no Brasil.** In: SILVA, A.G.; ALBUQUERQUE, A.C.S.; MANZANO, N.T.; SILVA, R.C.; RUSSELL, N.C. (Eds.). Agricultura Tropical: Quatro Décadas de Inovações Tecnológicas, Institucionais e Políticas. 1 ed. Brasília: Embrapa, 2008.

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, p. 1005-1010, 2003.

LIMA, M.M. **Competitividade da cadeia produtiva do maracujá na região integrada de desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno-Ride.** 2001. 171p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2001.

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,** v. 25, p. 489-493. 2003.

STATSOFT INC. **Statistica for Windows [Computer program manual]** Tulsa, OK. StatSoft Inc. 2300 East 14th Street, Tulsa. 1999.