

# VARIABILIDADE GENÉTICA DE GENÓTIPOS ELITE DE MARACUJAZEIRO OBTIDOS EM PROGRAMAS DE RETROCRUZAMENTO ENVOLVENDO ESPÉCIES SILVESTRES E COMERCIAIS COM BASE EM MARCADORES RAPD

GRACIELE BELLON<sup>1</sup>; FÁBIO GELAPE FALEIRO<sup>2</sup>; NILTON TADEU VILELA JUNQUEIRA<sup>2</sup>; ELISIANE FUHRMANN<sup>1</sup>; BERNARDO COUTINHO DE ALMEIDA<sup>3</sup>; JOÃO GILBERTO ALVES VILLELA<sup>3</sup>

# INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos mais importantes centros de diversidade do maracujá, pois muitas espécies silvestres de *Passiflora* são nativas, notadamente, no Centro-Norte do País. Estima-se que mais de 130 espécies de Passiflora sejam nativas do Brasil, apresentando ampla variabilidade genética, que é o ponto de partida para qualquer programa de melhoramento genético de uma espécie. A base genética do maracujazeiro-azedo comercial para resistência a doenças é relativamente estreita, sendo uma alternativa a utilização de espécies silvestres para aumentar o grau de resistência das cultivares comerciais a doenças.

Estudos preliminares têm mostrado que existe pouca variabilidade genética entre as cultivares comerciais para a resistência a doenças (JUNQUEIRA et al., 2003). Para ampliar essa base genética, espécies silvestres de maracujá têm sido utilizadas com sucesso em programas de melhoramento genético, principalmente utilizando o método dos retrocruzamentos auxiliado por marcadores moleculares (FALEIRO et al., 2008).

Marcadores moleculares do DNA têm sido utilizados como uma ferramenta auxiliar nas diferentes etapas do melhoramento genético, desde a caracterização do germoplasma até as etapas finais de seleção de plantas melhoradas . Neste trabalho, objetivou-se analisar e quantificar a variabilidade genética de genótipos elite de maracujazeiro obtidos em programas de retrocruzamento envolvendo espécies silvestres e comerciais de maracujazeiro com base em marcadores RAPD para acompanhar a recuperação do genoma recorrente e quantificar a redução da variabilidade genética devido aos retrocruzamentos.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Os genótipos utilizados neste trabalho foram obtidos a partir do programa de melhoramento genético do maracujazeiro realizado pela Embrapa Cerrados visando à obtenção de variedades mais

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Eng, Agr., estudante de pós-graduação, Universidade Brasília, e-mail: gracibellon@yahoo.com.br

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Eng. Agr., pesquisador Embrapa Cerrados, e-mail: ffaleiro@cpac.embrapa.br

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Estudante do curso de graduação em agronomia, Universidade de Brasília, e-mail: bc\_almeid@yahoo.com.br

produtivas, com maior resistência a doenças e qualidade físico-química dos frutos. Para análise molecular foram analisados 29 genótipos selecionados resultantes do processo de retrocruzamento, sendo 25 de cruzamentos inter-específicos e 4 de cruzamentos intra-específicos e 3 espécies silvestres( *Passiflora edulis* Sims (acesso silvestre roxo), *Passiflora setacea* e *Passiflora caerulea*), utilizadas na base dos cruzamentos (Tabela 1).

**Tabela 1**- Genótipos de maracujazeiros resultantes do processo de retrocruzamento e espécies silvestres utilizadas no estudo de variabilidade genética e suas respectivas origens.

Ordem	Genótipos	Híbridos	Origem dos híbridos
Pcr			
1	P. edulis Sims		
	(acesso silvestre roxo)		
2	P. setacea	-	-
3	P. caerulea	-	-
4	121	CPAC-EC4	P. caerulea x P. edulis Sims (acesso amarelo) RC4
5	124	CPAC-EC4	P. caerulea x P. edulis Sims (acesso amarelo) RC4
6	128	CPAC- EC4	P. caerulea x P. edulis Sims (acesso amarelo) RC4
7	138	CPAC – ES4	P. setacea x P. edulis Sims (acesso amarelo) RC4
8	153	CPAC – EC5	P. caerulea x P. edulis Sims (acesso amarelo) RC5
9	171	CPAC – ERE	P. edulis Sims (acesso amarelo) x P. edulis Sims (Acesso roxo silvestre)
10	211	Gigante	P. edulis Sims (acesso amarelo) x P.edulis Sims (acesso amarelo)
		Amarelo	
11	223	CPAC – EC4	P. caerulea x P. edulis Sims( acesso amarelo) RC4
12	238	CPAC – ES4	P. setacea x P. edulis Sims (acesso amarelo) RC4
13	239	CPAC – ES4	P. setacea x P. edulis Sims (acesso amarelo) RC4
14	255	CPAC – EC5	P. caerulea x P. edulis Sims (acesso amarelo) RC5
15	257	CPAC – EC5	P. caerulea x P. edulis Sims (acesso amarelo) RC5
16	265	CPAC – ES6	P. edulis Sims (acesso amarelo) x P.edulis Sims (acesso amarelo)
17	272	CPAC – ERE	P. edulis Sims (acesso amarelo) x P. edulis Sims (acesso roxo silvestre)
18	315	Gigante	P. edulis Sims (acesso amarelo) x P.edulis Sims (acesso amarelo)
		Amarelo	
19	325	CPAC – EC4	P. caerulea x P. edulis Sims (acesso amarelo) RC4
20	331	CPAC – ES4	P. setacea x P. edulis Sims (acesso amarelo) (RC4)
21	356	CPAC – EC5	P. caerulea x P. edulis Sims (acesso amarelo) (RC5)
22	371	CPAC – ERE	P. edulis Sims (acesso amarelo) x P. edulis Sims (acesso roxo silvestre)
23	378	CPAC – ERE	P. edulis Sims (acesso amarelo) x P. edulis Sims (acesso roxo silvestre)
24	433	CPAC – ES4	P. setacea x P. edulis Sims (acesso amarelo) RC4
25	455	CPAC – EC5	P. caerulea x P. edulis Sims (acesso amarelo) RC5
26	456	CPAC – EC5	P. caerulea x P. edulis Sims (acesso amarelo) RC5
27	458	CPAC – EC5	P. caerulea x P. edulis Sims (acesso amarelo) RC5
28	468	CPAC – ES6	P. setacea x P. edulis Sims (acesso amarelo) RC6
29	476	CPAC – ERE	P. edulis Sims (acesso amarelo) x P. edulis Sims (acesso roxo silvestre)
30	512	Gigante	P. edulis Sims (acesso amarelo) x P.edulis Sims (acesso amarelo)
		Amarelo	
31	519	Gigante	P. edulis Sims (acesso amarelo) x P.edulis Sims (acesso amarelo)
		Amarelo	
32	546	CPAC – ES5	P. setacea x P. edulis Sims (acesso amarelo) RC5

O DNA genômico de cada acesso foi extraído utilizando o método do CTAB, com modificações (FALEIRO et al., 2003). Foram utilizados nove primers decâmeros: OPD (07, 10 e 16), OPF (01, 14), OPG (01 e 08), OPH (12 e 16). Os marcadores foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os acessos com base no complemento de similaridade de Nei e Li (1979), utilizando-se o Programa Genes (CRUZ, 2001) e realizadas análises de agrupamento por meio de dendograma, utilizando-se o método

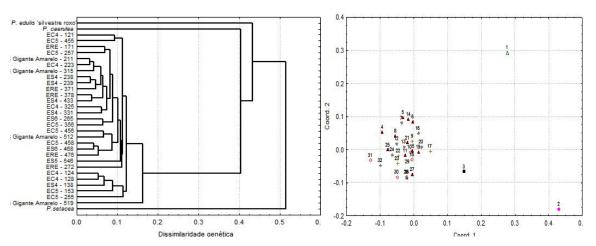
UPGMA (Unweighted pair-group arithmetic average) como critério de agrupamento e a dispersão gráfica baseada em escalas multidimensionais usando o método das coordenadas principais, com auxilio do programa SAS (Sas Institute Inc,1989) e Statistica (STATSOFT Inc,1999).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os nove *primers* decâmeros geraram um total de 177 marcas, perfazendo uma média de 19,6 marcadores por *primer*. Do total de marcadores, 95% foram polimórficos. A alta média de marcadores por primer e a alta porcentagem de marcadores polimórficos evidenciaram alta variabilidade genética interespecífica. FALEIRO et al. (2004), JUNQUEIRA et al. (2006), BELLON et al. (2007) entre outros, já haviam relatado a alta variabilidade genética interespecífica no gênero *Passiflora* com base em marcadores RAPD.

As distâncias genéticas entre os 32 genótipos de *Passiflora* variaram entre 0,035 e 0,562 (dados não apresentados). A menor distância, de 0,035, foi observada entre os genótipos 238 (*P. caerulea* x *P. edulis* Sims - RC4) e 239 (*P. caerulea* x *P. edulis* Sims - RC4) e a maior distância, de 0,562, observada entre os genótipos *P. edulis* Sims( acesso roxo silvestre) e *P. setacea* (0,562). A proximidade genética entre os genótipos 238 e 239 já era esperada, considerando que se tratam de genótipos obtidos a partir do mesmo cruzamento base, estando na mesma geração de retrocruzamento. A maior distância obtida entre *P. edulis* Sims( acesso roxo silvestre) e *P. setacea* também é compreensível, por se tratarem de espécies diferentes.

A análise de agrupamento e a dispersão gráfica (Figuras 1 ) realizadas com base na matriz de distâncias genéticas demonstram a separação das espécies silvestres *P.edulis* (acesso roxo silvestre), *P.setacea* e *P. caerulea*), que se localizam em pontos extremos do gráfico. Verifica-se a formação de um grande grupo contendo os híbridos inter-específicos, juntamente com os híbridos intra-específicos envolvendo a espécie *Passiflora edulis* Sims cultivar "BRS Gigante Amarelo" utilizada como genitor recorrente. Este agrupamento demonstra o êxito no processo de recuperação do genoma recorrente pelo programa de retrocruzamentos (Figura1).



**Figura 1 -** Análise de agrupamento e dispersão gráfica de 32 genótipos de maracujazeiro com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 177 marcadores RAPD. Os números dos genótipos correspondem aos informados na Tabela 1. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2011.

### **CONCLUSÕES**

Os marcadores evidenciaram variabilidade genética entre os genótipos estudados e confirmaram a eficiência da recuperação do genoma recorrente dentro do programa de retrocruzamento.

### REFERÊNCIAS

BELLON, G.; FALEIRO, FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, K. P.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SANTOS, E. C.dos.; BRAGA, M. F.; GUIMARÃES, C. T. Variabilidade genética de acessos silvestres e comerciais de *passiflora edulis* Sims.,com base em marcadores RAPD. Revista Brasileira de Fruticultura, 2007, vol.29, n. 1, ISSN 0100-2945.

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

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 No.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 a múltipla doenças com base em marcadores RAPD. Fitopatologia Brasileira, v. 29, (Supl), p. S325, 2004.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J.R. Caracterização de germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro assistidos por marcadores moleculares: resultados de pesquisa 2005-2008. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. 59 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, No 207).

JUNQUEIRA, K. P.; Faleiro, F, G; RAMOS, J. D.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, N,T,V; BRAGA, M,F. Confirmação de hibridações interespecíficas no gênero Passiflora por meio de marcadores RAPD. In: XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2006, Cabo Frio, RJ. p.384.

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.

SAS INSTITUTE. SAS/STAT user's guide. Version 6, 4th. Ed. Cary, North Caroline, 1989. 846 p. STATSOFT INC. Statistica for Windows [Computer program manual] Tulsa, OK. StatSoft Inc. 2300 Ecast 14th Street, Tulsa. 1999.