



AValiação DA DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE PROGÊNIES DE MARACUJAZEIRO-AZEDO

MICHELLE SOUZA VILELA¹; JOSÉ RICARDO PEIXOTO¹; GRACIELE BELLON²; FABIO
GELAPE FALEIRO²

INTRODUÇÃO

Na fruticultura nacional, encontram-se algumas frutas que lançam o Brasil à posição de grande produtor mundial, como é o caso do maracujá. Entretanto, tem-se carência de materiais genéticos com alta produtividade, qualidade de frutas e resistência a fitopatógenos, em razão, principalmente, da falta de trabalhos de pesquisa nas diversas áreas do conhecimento e especialmente com melhoramento genético do maracujazeiro.

Essa cultura apresenta ampla variabilidade genética a ser conhecida, caracterizada, protegida, conservada e convenientemente utilizada comercialmente ou em programas de melhoramento genético (FALEIRO et al., 2005a). Para explorar o potencial dessa cultura, testes de compatibilidade genética são realizados visando subsidiar a escolha de materiais a serem utilizados nos programas de melhoramento genético. No entanto, fatores como o tempo e a influência do ambiente são limitantes no estudo de diversidade genética em *Passiflora* spp. Nesse sentido, a utilização de marcadores moleculares é uma ferramenta valiosa, por permitir um rápido, preciso e acurado estudo da variabilidade existente, detectando as variações diretamente no DNA.

Assim, o trabalho teve por objetivo o estudo de diversidade genética entre progênies de maracujazeiro-azedo, desenvolvidas a partir de trabalhos de pesquisa realizados pela Universidade de Brasília – UnB e Embrapa Cerrados, utilizando marcadores moleculares RAPD, como subsídio para suas utilizações no melhoramento genético.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 32 progênies de maracujazeiro-azedo: PLANTA 6, MAR 20#40, PLANTA 1, MAR 20#29, MAR 22#2005, ROXO AUSTRALIANO, MAR 20#15, MSC, RC3, RUBI GIGANTE, ARO1, ARO2, MAR 20#49, SOL CERRADO, MAR 20#6, PLANTA 5, MAR 20#23, PLANTA 4, PLANTA 2, PLANTA 7, MAR 20#03, EC30, MAR 20#10, MAR 20#34, MAR 20#21, FB200, FP01, GIGANTE AMARELO, EC-RAM, GA2, REDONDÃO e MAR 20#39. Essas

¹Campus Universitário Darcy Ribeiro, Brasília – DF, CEP 70910-900 e-mails: chellysv@hotmail.com; peixoto@unb.br;

²BR 020 Km 18 Planaltina, DF - Brasil - CEP 73310-970 - Caixa Postal: 08223 e-mail: gracibellon@yahoo.com.br; ffaleiro@cpac.embrapa.br

progênies foram desenvolvidas a partir de trabalhos de pesquisa realizados pela Universidade de Brasília – UnB e Embrapa Cerrados.

O trabalho foi realizado no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Embrapa Cerrados. Folhas de cada progênie 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 uL, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, MgCl₂ 3 mM, 100 uM de cada um dos desoxiribonucleotídeos (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 0,4 uM 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 13 primers decâmeros: OPD 4, OPD 5, OPD 7, OPD 11, OPD 16, OPE 18, OPE 20, OPF 14, OPG 5, OPG 8, OPH 4, OPH 15 e OPH 17.

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 (CRUZ, 1997). A matriz de distâncias genéticas foi utilizada para realizar a análise de agrupamento com o auxílio do Programa Statistica (STATSOFT Inc., 1999), utilizando como critério de agrupamento o método do UPGMA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos primers decâmeros utilizados, observou-se um total de 156 marcadores RAPD, com uma média de 12 marcadores por primer. Do total de marcadores, 140 (89,74%) foram polimórficos (Tabela 1). A baixa porcentagem de marcadores monomórficos, juntamente com a alta média de marcadores por primer, evidenciam a alta variabilidade genética intra-específica das progênies analisadas. Dados semelhantes foram observados por Bellon et. al. (2007), em trabalho para estimar a variabilidade genética existente em acessos silvestres e comerciais de *P. edulis*. Junqueira et al. (2005), trabalhando com acessos de *P. nitida*, verificaram uma alta variabilidade, especialmente quando se compararam acessos de procedências diferentes. Resultados diferentes foram encontrados em trabalhos realizados por Faleiro et al. (2005b) e Pio Viana et al. (2003), que observaram baixa variabilidade genética quando testaram diferentes acessos da espécie *P. edulis* amarelo, evidenciando uma probabilidade de um estreitamento da base genética entre as cultivares comerciais.

Tabela 1 - Primers utilizados para obtenção dos marcadores RAPD e respectivos número de bandas polimórficas e monomórficas.

PRIMER	SEQUENCIA 5'-3'	N° DE BANDAS	
		POLIMÓRFICAS	POLIMÓRFICAS
OPD04	TCTGGTGAG	9	9
OPD05	TGAGCGGAC	17	0
OPD07	TTGGCACGGG	9	0
OPD11	AGCGCCATTG	10	2
OPD16	AGGGCGTAAG	9	0
OPE18	GGA CTGCAGA	14	0
OPE20	AACGGTGACC	10	0
OPF14	TGCTGCAGGT	13	4
OPG05	CTGAGACGGA	10	4
OPG08	TCACGTCCAC	9	0
OPH12	ACGCGCATGT	9	4
OPH15	AATGGCGCAG	9	2
OPH17	CACTCTCCTC	12	0
		16	

Com base na análise de agrupamento, diferentes grupos de similaridade foram definidos. As distâncias genéticas entre as 32 progênies variaram de 0,08 a 0,39. Os maiores valores observados (0,39) se referem a distância entre os materiais: Planta 01 e MAR 20#06; Roxo Australiano e MAR 20#06; Planta 05 e MAR 20#06. Bellon et al. (2007), observaram distâncias genéticas de 0,09 a 0,50 entre 15 acessos de comerciais e silvestres de *P. edulis*.

A partir das distâncias genéticas foi possível realizar a análise de agrupamento. Nessa análise observou-se que as 32 progênies foram subdivididos em pelo menos 7 grupos de divergentes com distância genética relativa de 0,19.

CONCLUSÕES

Os marcadores moleculares RAPD demonstram e quantificam ampla divergência genética entre as 32 progênies de maracujá, indicando que a população em estudo contém diversidade genética satisfatória para a continuidade do programa de melhoramento genético. Esses resultados podem auxiliar também na definição de estratégias mais eficientes.

REFERÊNCIAS

BELLON G, FALEIRO FG, JUNQUEIRA KP, JUNQUEIRA NTV, et al. Genetic variability of wild and commercial passion fruit (*Passiflora edulis* Sims.) accessions using RAPD markers. [Variabilidade genética de acessos silvestres e comerciais de *Passiflora edulis* Sims. com base em marcadores RAPD]. 2007. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 29, n.X, p. 124-127.

- CRUZ, C.D. **Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: UFV. 1997. 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. 6p. (Comunicado Técnico, 92).
- FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro- Desafios da pesquisa. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.(Ed.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina Distrito Federal: Embrapa Cerrados, 2005a. p.187-210.
- JUNQUEIRA, K.P.; FALEIRO, F.G.; RAMOS, J.D.; BELLON, G.; PAULA, M.S.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. Variabilidade genética de acessos de maracujá-suspiro (*Passiflora nitida* Kunth.) com base nos marcadores moleculares. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISAS EM MARACUJAZEIRO, 4., 2005. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p.122-127.
- PIO VIANA, A.; PEREIRA, T.N.S.; PEREIRA, M.G.; SOUZA, M.M.; MALDONADO, F.; AMARAL JÚNIOR, A.T. Diversidade em maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e *Passiflora* spp. por marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, p.489-493. 2003.
- STATSOFT INC. **Statistica for Windows [Computer program manual]** Tulsa, OK. StatSoft Inc. 2300 East 14 th Street, Tulsa. 1999.