

## DIVERSIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE MARACUJÁS-DO-CERRADO COM BASE NO PERFIL DE CAROTENÓIDES

Daniele Cristina Wondracek<sup>1</sup>, Fábio Gelape Faleiro<sup>2</sup> Tânia da Silveira Agostini Costa<sup>1</sup> (<sup>1</sup>*Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, - PqEB - Av. W5 norte (final), Caixa Postal 02372, 70770-900 Brasília, DF,* <sup>2</sup>*Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, 73010-970 Planaltina, DF. e-mail: daniele@cenargen.embrapa.br*)

**Termos para indexação:** maracujazeiro, diversidade genética, carotenóides

### Introdução

O Brasil é um dos centros de diversidade do gênero *Passiflora* e por isso, possui um grande potencial para a utilização dos recursos genéticos de maracujá na área agrônômica. Existem cerca de 400 espécies, das quais aproximadamente 150 ocorrem no país e 70 produzem frutos comestíveis (Faleiro et al., 2005). Dentre elas, várias se encontram distribuídas no Cerrado, como *P. setacea* DC. conhecida como maracujá-do-cerrado, maracujá-do-sono, maracujá-sururuca e maracujá-de-boi; *P. cincinnata* Mast. chamada de maracujá-do-cerrado, maracujá-mochila, maracujá-tubarão e maracujá-de-vaqueiro (Oliveira e Ruggiero, 2005); *P. nitida* Kunth. conhecida por maracujá-suspiro, maracujá-de-rato, maracujá-do-mato e maracujá-de-cheiro (Junqueira et al., 2006).

As espécies nativas do Cerrado destacam-se por apresentar uma ou mais características de potencial econômico, como maior resistência a doenças e pragas, maior longevidade, maior adaptação a condições climáticas adversas, período de florescimento ampliado e/ou maior concentração de componentes químicos interessantes para a indústria farmacêutica. Algumas espécies são muito produtivas e seus frutos têm as cascas rígidas que continuam verdes quando maduros, não sendo atraentes para animais silvestres enquanto estão na planta. Também se destaca a importância social já que o cultivo das espécies nativas ocorre predominantemente em pequenos pomares e a produção pode ocorrer em períodos de entressafra do maracujá comercial, gerando emprego e renda em áreas marginais para a agricultura convencional e dispensando o uso de defensivos agrícolas (Faleiro et al., 2005).

O uso de espécies nativas é consagrado pelas populações locais, através do consumo *in natura* e da confecção de sucos, doces e sorvetes (Oliveira e Ruggiero, 2005). A importância medicinal deve-se às propriedades calmantes em algumas espécies, dentre outras que ainda são

pouco conhecidas. A utilização para fins ornamentais também tem ganhado importância. Além da riqueza oferecida pelas espécies nativas e pelas variedades silvestres, o Brasil também é o principal produtor e consumidor mundial de maracujá comercial (Faleiro et al., 2008). A principal espécie cultivada é o maracujá-amarelo (*P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) e em menor escala o maracujá-roxo (*P. edulis* Sims *edulis*) e o maracujá-doce (*P. alata* Curtis).

A caracterização das variedades silvestres de *P. edulis* e das demais espécies nativas é importante, pois várias delas poderão ser utilizadas no enriquecimento dos programas de melhoramento genético. O potencial funcional destas espécies na alimentação decorre da existência de antioxidantes, como carotenóides, compostos fenólicos e vitaminas que são associados à redução do risco de doenças crônicas degenerativas. Os carotenóides, responsáveis pela pigmentação de muitas frutas e verduras, desempenham múltiplas funções no organismo, envolvendo a atividade pró-vitamina A e o potencial antioxidante (Britton, 1995).

Apesar de todo esse potencial, a grande maioria das espécies do gênero *Passiflora* ainda não foi suficientemente estudada quanto às propriedades medicinais, funcionais e nutricionais. A obtenção do conhecimento científico através da caracterização dessas espécies permite a valoração, a conservação e o uso de uma biodiversidade essencialmente brasileira, suscitando o desenvolvimento de ações, programas e produtos para a diversificação de sistemas produtivos e de alimentos para a sociedade. Nesse contexto, objetivou-se no presente trabalho avaliar a diversidade genética entre acessos de maracujás- do-Cerrado com base no perfil de carotenóides presentes na polpa de seus frutos.

## Material e Métodos

Os frutos dos acessos de maracujás nativos do Cerrado (*P. setacea* acesso BRS Pérola do Cerrado, *P. cincinnata* acessos CPAC MJ-26-01 redondo e CPAC MJ-26-02 cabaça e *P. nitida* acesso CPAC MJ-01-03) foram provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF. Os frutos de maracujá-amarelo comercial foram obtidos em uma rede de supermercados em Brasília, DF. Foram utilizadas 17 – 250g de polpa para a extração, de acordo com a coloração da espécie. A extração de carotenóides foi realizada segundo Rodriguez-Amaya (1999), com adaptações. Os carotenóides foram extraídos com acetona gelada e transferidos para o éter etílico. Metade das amostras foram saponificadas com KOH 10% em metanol por uma noite à

temperatura ambiente. A determinação dos carotenóides foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) segundo Kimura & Rodriguez-Amaya (2002) e Azevedo-Meleiro & Rodriguez-Amaya (2004), utilizando-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência equipado com detector de conjunto de diodos (CLAE PDA Varian PS-240 / PS-410 / PS-335 / Software Galaxie 1.9). Os carotenóides foram separados em coluna C<sub>18</sub>, ODS-2, 150 x 4,6mm, 3 µm de tamanho de partícula. A fase móvel utilizada foi acetonitrila (contendo 0,05% de trietilamina):metanol:acetato de etila nas proporções de 95:5:0 nos primeiros 20 min de corrida e 60:20:20 entre 20 e 60 min; o tempo de equilíbrio da coluna foi de 20 min. O fluxo utilizado foi 0,5 mL/min e o volume de amostra injetado foi 10µL. A identificação dos carotenóides foi realizada através das informações obtidas dos espectros de absorção no UV-visível fornecidos pelo detector de conjunto de diodos, pela ordem de eluição na coluna, pelos valores de R<sub>f</sub> em camada delgada e pela co-cromatografia com padrões.

Estatísticas descritivas de cada carotenóide foram calculadas. Com base no perfil de carotenóides encontrados em cada material genético foi calculada uma matriz de distâncias genéticas, utilizando a Distância Euclidiana Média Padronizada (DEMP) com o auxílio do Programa Genes (Cruz, 1997). A matriz de distâncias genéticas foi utilizada para realizar análises de agrupamento por meio de dendrograma, utilizando-se o método do 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 auxílio do Programa SAS e Statistica (Statsoft Inc., 1999). A contribuição relativa de cada característica para a diversidade genética também foi avaliada, utilizando o método de Singh (1981), com o auxílio do Programa Genes.

## Resultados e Discussão

A análise cromatográfica permitiu a identificação de 13 tipos de carotenóides presentes na polpa de frutos das espécies estudadas. O beta-caroteno foi o carotenóide que teve maior contribuição no índice de diversidade genética, 75,7% (Tabela 1).

As distâncias genéticas entre os cinco acessos de maracujás do cerrado com base nos carotenóides variaram entre 0,07 e 64,27 (Tabela 2). As maiores distâncias genéticas (52,98 a 64,27) foram obtidas entre a espécie comercial *P. edulis* f. *flavicarpa* e as demais espécies nativas.

A espécie que mais se aproximou da espécie comercial foi a *P. setacea*. As espécies nativas do Cerrado mais próximas em relação ao perfil de carotenóides foi a *P. nitida* e a *P. cincinnata*. Os dois acessos de *P. cincinnata* também foram bem próximos.

**Tabela 1.** Estatísticas descritivas relacionadas ao pico do espectro de absorvância e contribuição relativa para a diversidade genética de treze carotenóides avaliados em cinco acessos de maracujá.

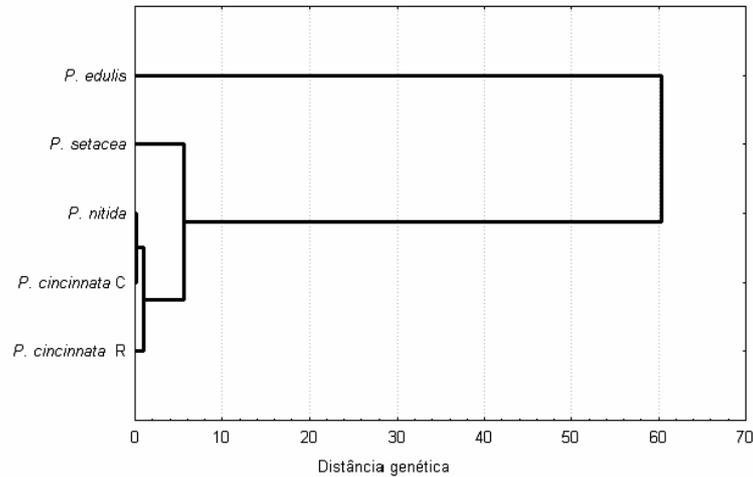
Carotenóides	Média	Mínimo	Máximo	Coefficiente de Variação	Variância	Desvio Padrão	CRDG <sup>1</sup> (%)
Neoxantina	15,93	0,00	78,44	219,37	1221,47	34,95	0,79
Violaxantina	12,23	0,00	50,86	177,53	471,65	21,72	0,30
Cis-Violaxantina	28,98	0,00	121,03	181,13	2754,58	52,48	1,80
Anteraxantina	13,42	0,022	41,68	134,89	327,97	18,11	0,21
Zeaxantina	7,06	0,00	16,27	100,06	49,92	7,066	0,03
Beta-criptoxantina	21,41	0,00	107,05	223,60	2292,10	47,87	1,49
Prolicopeno	13,62	0,00	68,09	223,60	927,44	30,45	0,60
Mistura	28,43	0,00	142,15	223,60	4041,73	63,57	2,64
Cis-Zeta-Caroteno	46,19	0,00	230,17	222,64	10577,34	102,84	6,90
Zeta-Caroteno	52,29	0,00	260,11	222,17	13496,83	116,17	8,81
Beta-Caroteno	170,12	0,37	777,17	200,23	116040,04	340,64	75,74
Fitoflueno	13,33	0,00	66,68	223,60	889,47	29,93	0,58
13Cis-Beta-Caroteno	5,53	0,00	24,97	197,58	119,47	10,93	0,08

<sup>1</sup>Contribuição Relativa para a Diversidade Genética, utilizando-se o método de Singh (1981).

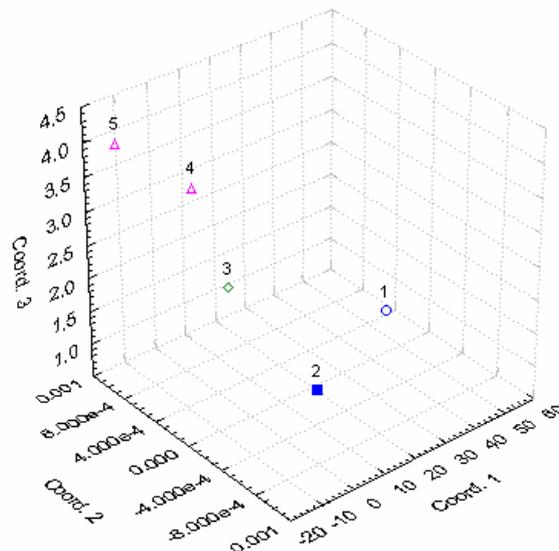
**Tabela 2.** Matriz de distâncias entre cinco acessos de maracujazeiro, baseada em 13 carotenóides.

Variedades	1	2	3	4
1 <i>Passiflora edulis</i> , Sims. f. <i>flavicarpa</i> Deg.	-			
2 <i>Passiflora setacea</i> DC.	52,98	-		
3 <i>Passiflora nitida</i> Kunth	64,27	7,09	-	
4 <i>Passiflora cincinnata</i> Mast. Redondo	61,59	3,36	0,98	-
5 <i>Passiflora cincinnata</i> Mast. Cabacinha	62,30	6,43	0,07	0,90

A análise de agrupamento realizada com base nas distâncias genéticas, permitiram subdividir as cinco acessos de *Passiflora* em, pelo menos, três grupos de similaridade genética (Figura 1). O maior grupo foi formado pelos dois acessos de *P. cincinnata* e um acesso de *P. nitida*. O acesso de *P. edulis* foi o que apresentou maiores diferenças em relação aos demais. As distâncias entre os acessos e a distribuição dos mesmos nos grupos de similaridade podem ser também observadas no gráfico de dispersão (Figura 2).



**Figura 1.** Análise de agrupamento de cinco acessos de maracujazeiro com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se pico do espectro de absorvância de 13 tipos de carotenóides. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento.



**Figura 2.** Dispersão gráfica de cinco acessos de maracujazeiro com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se o perfil de carotenóides. Os números correspondem aos acessos da Tabela 2, sendo *P. edulis* (○), *P. setacea* (●), *P. nitida* (◇) e *P. cinnamata* (△).

### Conclusões

Os resultados indicam a existência da diversidade genética entre os acessos analisados com base no perfil de carotenóides, sendo que o perfil verificado nas espécies nativas do Cerrado é bem diferente do perfil verificado na espécie comercial. Esta diferença reforça a necessidade de

conservação e a utilização dos maracujazeiros nativos para diversificar a alimentação e criar novas alternativas para os sistemas de produção.

### Referências bibliográficas

AZEVEDO-MELEIRO, C.H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**. v.17, p. 385-396. 2004.

BRITTON, G. Structure and properties of carotenoids in relation to function. **FASEB Journal**. v. 9, p. 1551-1558, 1995.

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

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.; PEIXOTO, J.R. 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: Embrapa Cerrados, p. 187-209, 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, K.P. **Características físico-químicas de frutos e variabilidade genética de *Passiflora nitida* Kunth, por meio de RAPD**, 2006, 114 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. **Food Chemistry**. v. 78, p. 389-398, 2002.

OLIVEIRA, J.C. de; RUGGIERO, C. Espécies de maracujá com potencial agrônomo. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Ed.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, p.143-158, 2005.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **A Guide to Carotenoid Analysis in Food**. Washington: ILSI Press, 1999. 64p.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic diversity. **The Indian J. of Genetic and Plant Breeding**, v. 41, p. 237-245, 1981.

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

### Agradecimentos

Ao Programa Biodiversidade Brasil-Itália, Programa Agrofuturo e CNPq pelo suporte financeiro.