

DIVERSIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE MARACUJÁS DO CERRADO COM BASE NO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS PRESENTES NO ÓLEO DAS SEMENTES

Renata Miranda Lopes*¹, Fábio Gelape Faleiro², Tânia da Silveira Agostini Costa¹ (*Bolsista, ¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Embrapa, Parque Estação Biológica - PqEB - Av. W5 Norte (final) Caixa Postal 02372, 70770-900 Brasília, DF. ² Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, 73010-970 Planaltina, DF. e-mail: tania@cenargen.embrapa.br)

Termos para indexação: maracujazeiro, óleo, semente, ácidos graxos

Introdução

O Cerrado brasileiro é reconhecido como a savana mais rica do mundo em biodiversidade. Segundo dados do IBGE (2008) são 10.000 espécies de plantas, sendo 4.400 endêmicas desse bioma; muitas destas espécies possuem potencial frutífero, entre elas as Passifloráceas.

Existem no mundo mais de 580 espécies de maracujazeiros, sendo a grande maioria procedente da América Tropical, tendo ocorrência de mais de 40 espécies no Cerrado das quais pelo menos cinco recebem o nome popular de Maracujá-do-cerrado (Braga, 2005; Oliveira & Ruggiero, 2005). De acordo com Oliveira et al (1994); Souza & Meletti, (1997) citadas por Braga (2005) o número de espécies no Brasil é de 111 a 150, sendo que o maior centro de diversidade genética deste gênero localiza-se no Centro-Norte do Brasil.

Grande parte da variabilidade genética do gênero *Passiflora* se encontra dispersa no território brasileiro, o que coloca nosso país entre um dos principais centros de diversidade genética desse gênero; dessa forma a caracterização e exploração da diversidade genética dessas espécies podem revelar recursos genéticos de grande valor, como novas variedades para os sistemas de produção ou utilização em programas de melhoramento genético, sendo uma importante demanda para a pesquisa (Ferreira, 2005; Faleiro et al.2005). Objetivou-se com esse trabalho analisar a diversidade genética de acessos de maracujás do cerrado a partir de ácidos graxos presentes no óleo das sementes destes frutos.

Material e Métodos

Os materiais genéticos analisados nesse trabalho foram 06 acessos de *Passiflora cincinnata* e 01 acesso de *Passiflora setacea* provenientes de diferentes localidades do norte do estado de Minas Gerais; 02 acesso de *P. cincinnata*, 01 de *Passiflora nitida* e 01 acesso de *P. stacea* obtidos

no Banco de germoplasma de *Passiflora* da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF; os frutos de *P. edulis* var *flavicarpa*, (maracujá azedo amarelo, empregado como referência), foram adquiridos em um mercado de Brasília (Tabela 1). Para separar as sementes da polpa os frutos foram cortados em duas partes e a polpa transferida para uma peneira, o suco foi extraído e as sementes foram coletadas separadamente, lavadas com água e transferidas para um liquidificador doméstico (as hastes foram protegidas com fita adesiva para evitar o corte das sementes), onde foram friccionadas para a remoção da polpa e mucilagem.

Tabela 1. Procedência das espécies de *Passiflora* utilizadas neste estudo.

Nº	Espécie	Procedência	Estado	Código
1	<i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Mercado	DF	–
2	<i>Passiflora cincinnata</i> Mast.	Serranópolis	MG	–
3	<i>Passiflora cincinnata</i> Mast.	Montes Claros	MG	–
4	<i>Passiflora cincinnata</i> Mast.	Ibiracatú	MG	–
5	<i>Passiflora cincinnata</i> Mast.	Porteirinha	MG	–
6	<i>Passiflora cincinnata</i> Mast.	Embrapa Cerrados	DF	CPAC MJ-26-01
7	<i>Passiflora cincinnata</i> Mast.	Embrapa Cerrados	DF	CPAC MJ-26-02
8	<i>Passiflora setacea</i> D.C.	Montes Claros	MG	–
9	<i>Passiflora setacea</i> D.C.	Embrapa Cerrados	DF	CPAC MJ-12-01
10	<i>Passiflora nitida</i> Kunth	Embrapa Cerrados	DF	CPAC MJ-01-03

O óleo foi extraído do farelo seco por extração contínua a quente (70°C) com éter de petróleo 40-60°C em extrator de gordura (Tecnal). O extrato obtido foi filtrado e o solvente evaporado á vácuo (30-55°C). O óleo adquirido foi acondicionado em vial de 4ml e conservado em freezer a -20°C, para posterior metilação e injeção no cromatógrafo.

Para a obtenção de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) foi utilizado o método descrito por Murrieta (2003); foram empregados 50-100 µL das frações oleosas das sementes em tubos de ensaio de 25mL, acrescentando-se 2mL de solução de hidróxido de potássio 2M. Os tubos foram colocados em banho-maria 55°C, onde permaneceram por uma hora, sendo agitados por 15 seg, em intervalos de 5 min em agitador vortex. Em seguida, foram resfriados em bacia de gelo por 15 min. Decorrido o tempo, foram adicionados aos tubos 3mL de solução saturada de cloreto de sódio e 4mL de hexano. Os tubos foram agitados por 15seg em vortex e permaneceram em repouso por 15 min para a separação das fases. Em seguida, foi retirado 1mL da fração superior e adicionado em vials de 2mL, contendo uma camada de 1 mm de sulfato de sódio anidro. Após a

metilação, quando não injetados imediatamente, os ésteres metílicos foram estocados em freezer a -20°C até o momento da injeção.

Foi utilizado um cromatógrafo a gás equipado com coluna capilar DB-23 Agilent (50% cianopropil – metilpolisiloxano; diâmetro interno: 0,25mm; espessura do filme: 0,25 µm; comprimento: 60m) e detector de ionização de chama (GC-FID Shimadzu), de acordo com metodologia estabelecida pela American Oil Chemists' Society (AOCS). Condições de operação do cromatógrafo: Fluxo coluna: 1,00 mL/min.; Velocidade linear: 24 cm/seg; Temperatura do detector: 280°C; Temperatura do injetor: 250°C; Temperatura Forno: 110°C – 5 minutos, 110 – 215°C (5°C/min), 215°C – 24 minutos; Gás de arraste: Hélio; Volume injetado: 1,0 µL

Estatísticas descritivas de cada ácido graxo foram calculadas. Com base nos ácidos graxos 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 no cromatógrafo a gás encontrou 15 ácidos graxos presentes no óleo da semente das espécies do estudo, sendo que em três não foi possível a identificação. Os ácidos graxos que mais contribuíram para a diversidade genética foram o linoléico seguido do oléico (Tabela 2).

As distâncias genéticas entre as 10 acessos de maracujás do cerrado com base em ácidos graxos variaram entre 1,88 e 89,64 (Tabela 4). As maiores distâncias genéticas (61,04 a 89,64) foram obtidas entre a espécie *P. nitida* e os demais acessos, sendo *P. setacea* Montes Claros (61,04) o acesso mais próximo. Os acessos que mais se aproximaram do maracujá comercial *P. edulis* foram *P. cincinnata* Montes Claros I e III (13,05 e 14,79).

Entre os acessos de *P. cincinnata*, distâncias variaram de 3,15 (CPACII e M. Claros IV) e 23,81 (M. Claros I e II). A menor distância genética foi encontrada entre os dois acessos de *P. setacea* 1,88.

Tabela 2. Estatística descritiva e contribuição relativa para a diversidade genética de 15 ácidos graxos presentes no óleo de sementes de quatro espécies de maracujazeiro.

Variável	Ácido graxo	Estrutura	Média%	Máximo	Mínimo	CV	Variância	DP	CRDG (%)
1	láurico	C12:0	0,3	0,3	0,0	316,2	0,0	0,1	0,01
2	mirístico	C14:0	0,2	0,63	0,1	88,7	0,0	0,2	0,03
3	palmítico	C16:0	10,9	15,5	9,5	16,4	3,2	1,8	3,22
4	NI1*	-	0,1	0,1	0,0	28,7	0,0	0,0	**
5	palmitoléico	C16:1	0,3	2,27	0,1	193,9	0,5	0,7	0,46
6	NI2*	-	0,1	0,1	0,6	16,3	0,0	0,0	**
7	esteárico	C18:0	3,1	3,59	2,6	12,2	0,2	0,4	0,15
8	oléico	C18:1n9	14,6	25,22	8,3	38,2	31,2	5,6	31,30
9	vacênico	C18:1n11	0,4	0,64	0,2	35,8	0,0	0,1	0,02
10	linoléico	C18:2	69,3	76,64	50,8	11,6	64,6	8,0	64,80
11	linolênico	C18:3	0,6	0,67	0,4	15,1	0,0	0,1	0,01
12	araquídico	C20:0	0,2	0,29	0,1	30,2	0,0	0,1	**
13	gadoléico	C20:1	0,1	0,14	0,1	16,1	0,0	0,0	**
14	NI3*	-	0,0	0,07	0,0	96,8	0,0	0,0	**
15	beênico	C22:0	0,1	0,14	0,0	97,1	0,0	0,1	**

* NI não identificado; ** valores <0,005

Tabela 4. Matriz de distâncias entre 10 acessos de maracujazeiro, baseada em 15 ácidos graxos.

Espécies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	-									
2 <i>P. cincinnata</i> Mast. M. Claros* I	13,05	-								
3 <i>P. cincinnata</i> Mast. M. Claros II	21,36	23,81	-							
4 <i>P. cincinnata</i> Mast. M. Claros III	14,79	3,36	18,12	-						
5 <i>P. cincinnata</i> Mast. M. Claros IV	28,34	18,66	6,87	13,16	-					
6 <i>P. cincinnata</i> Mast. CPAC I R**	22,52	12,60	7,82	7,93	5,53	-				
7 <i>P. cincinnata</i> Mast. CPAC II C***	38,77	20,52	11,85	12,69	3,15	6,35	-			
8 <i>P. setacea</i> D.C. M. Claros	21,08	26,00	13,30	29,27	23,52	22,22	32,74	-		
9 <i>P. setacea</i> D.C. CPAC	27,97	32,31	13,38	33,97	20,92	24,39	30,83	1,88	-	
10 <i>P. nitida</i> Kunth	74,88	83,17	68,25	87,56	79,51	70,96	89,64	61,04	71,07	-

* Montes Claros - MG

** Redondo

*** Cabaça

Análise de agrupamento realizada com base nas distâncias genéticas, permitiram subdividir as 10 acessos em, pelo menos, quatro grupos de similaridade genética (Figura 1). As distâncias entre os acessos e a distribuição dos mesmos nos grupos de similaridade podem ser também observadas no gráfico de dispersão (Figura 3). Os ácidos graxos que mais contribuíram para a diversidade genética foram o linoléico (64,8%) e o oléico (31,3%).

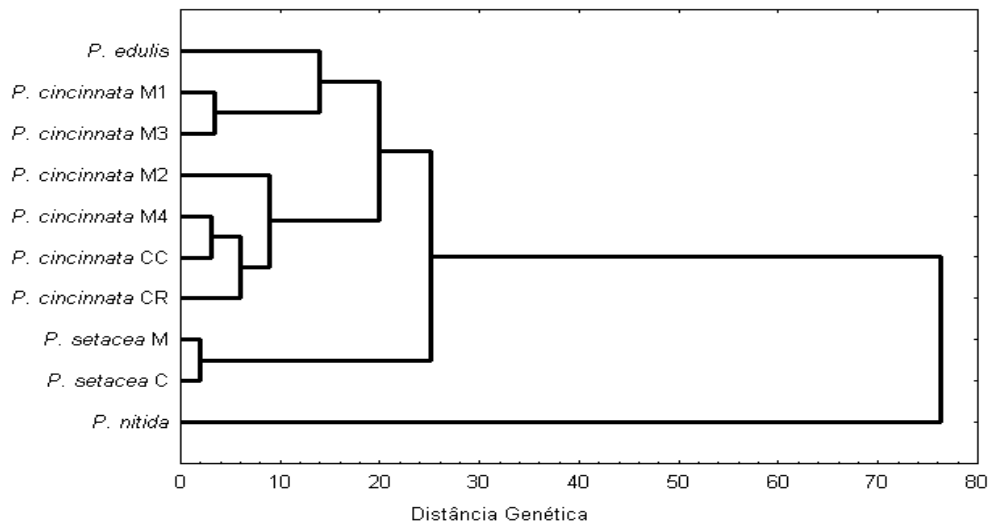


Figura 1. Análise de agrupamento de 10 acessos de maracujazeiro com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 15 ácidos graxos. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento. M. Montes Claros, CC. CPAC cabaça, CR. CPAC redondo.

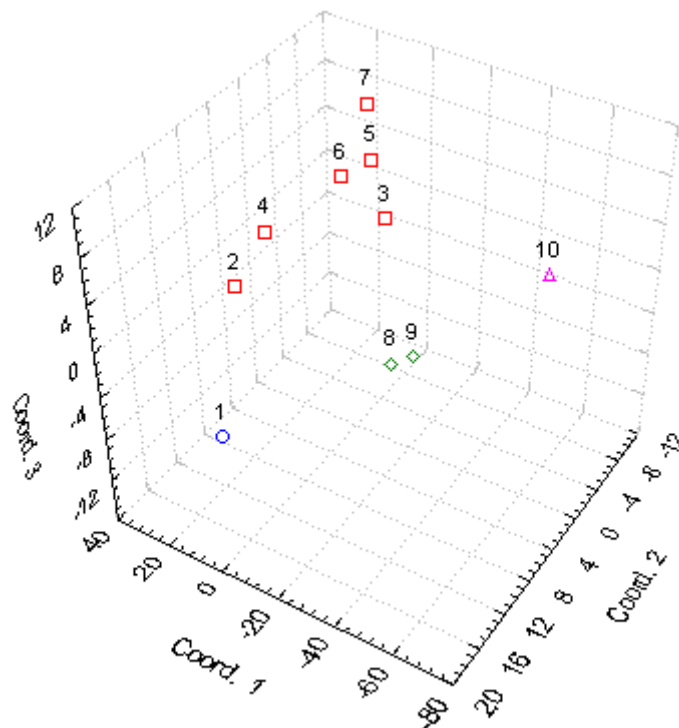


Figura 2. Dispersão gráfica de 10 acessos de maracujazeiro com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando 15 ácidos graxos. Os números correspondem aos acessos da Tabela 1. Acessos com o mesmo símbolo pertencem ao mesmo grupo de similaridade.

Conclusões

A partir dos resultados observou-se que a espécie *P. nitida* é a mais isolada, este fato deve-se a presença de um ácido graxo incomum as outras espécies do estudo, o laúrico. Os acessos que mais se aproximaram da espécie comercial *P. edulis* foram os de *P. cincinnata* e *P. setacea*.

Agradecimentos

Ao Programa Biodiversidade Brasil Itália – PBBI, ao Centro de Agricultura Alternativa - CAA de Montes Claros MG e ao CNPq pelo apoio e financiamento da pesquisa.

Referências bibliográficas

BRAGA, M. F.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FALEIRO, F. G.; AGOSTINI-COSTA, T. S.; BERNACCI, L. C. 2006. Maracujá-do-cerrado In: VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S.; SILVA, D. B.; FERREIRA, F. R.; SANO, S. M. **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 216-233, 2006.

CRUZ, C. D. 1997. **Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa, Minas Gerais: Universidade Federal de Viçosa. 442p.

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. (Eds.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 187-210, 2005.

FERREIRA, F.R. Recursos genéticos de Passiflora In: Faleiro, F.G.; Junqueira, N.T.V.; Braga, M.F. (Eds.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 40-51, 2005.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2008. **Mapa de Biomas e de Vegetação**. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php . Acessado em: 17 de Jan. de 2008.

MURRIETA, C.M; HESS, B. W; RULE, D. C. D. Comparison of acidic and alkaline catalysts for preparation of fatty acid methyl esters from ovine muscle with emphasis on conjugated linoleic acid, **Meat Science**, v. 65, p. 523-529, 2003.



OLIVEIRA; J. C. & RUGGIERO; C. 2006. **Espécies de maracujá com potencial agrônômico**, In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M.F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**, Brasília: Embrapa Cerrados, p. 143-155, 2006.

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