

**VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE MARACUJAZEIRO-DOCE
CARACTERIZADA POR MARCADORES RAPD E AVALIAÇÃO DA
RESISTÊNCIA À BACTERIOSE E À VIROSE DO ENDURECIMENTO DOS
FRUTOS***

Graciele Bellon¹, Fábio Gelape Faleiro¹, José Ricardo Peixoto², Nilton Tadeu Vilela Junqueira¹, Keize Pereira Junqueira¹, Erivanda Carvalho dos Santos¹, Kenia Gracielle da Fonseca¹, Marcelo Fideles Braga¹, João Batista dos Santos¹, (¹*Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, 73010-970 Planaltina, DF. e-mail: bellon@cpac.embrapa.br* ²*Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, 70910-900 Brasília, DF.* * Parte da dissertação de mestrado, auxílio financeiro: CNPq.

Termos de indexação: *Passiflora alata*, melhoramento genético, variabilidade genética, resistência à doenças

Introdução

O maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis), uma espécie nativa do Brasil de ocorrência bastante generalizada, podendo ser cultivada em todos os estados do país, conhecido vulgarmente como maracujá-grande, maracujá-guaçu, maracujá-alado (Inglês de Souza & Meletti, 1997). É cultivado no Brasil pela elevada cotação no mercado de frutas frescas, sendo utilizado também como planta ornamental e medicinal (Vasconcelos & Cereda 1994; Oliveira et al., 1994).

A exploração comercial do maracujazeiro-doce no Brasil teve início no final da década de 1960 e começou a se expandir na década de 1970. Com a expansão e intensificação do cultivo, várias doenças vêm adquirindo importância na cultura do maracujazeiro, causando grandes prejuízos de importância nacional na produção de maracujazeiro. Dentre essas doenças, a bacteriose, causada por *Xanthomonas axonopodis* pv *passiflorae*, e a virose do endurecimento do fruto, causada por *Passionfruit woodiness virus*, PWV e *Cowpea aphid-borne mosaic virus*, CABMV, são consideradas as principais doenças da parte aérea pelos danos que provocam, pela dificuldade de controle e ocorrência generalizada no Brasil (Junqueira et al., 2005).

A variabilidade genética das atuais variedades comerciais para resistência a doenças é reduzida, sendo que a busca de fontes de resistência é uma atual demanda para a pesquisa (Faleiro et al., 2006). Espécies silvestres de maracujá nativas e

espontâneas no Cerrado são alternativas para a ampliação da base genética da resistência a diversas doenças, que podem ser combinadas com características de produtividade e qualidade de frutos em programas de melhoramento genético.

Neste sentido, objetivou-se analisar a variabilidade genética de acessos de *Passiflora alata* Curtis por meio de marcadores RAPD e avaliar a resistência de tais acessos à bacteriose e à virose do endurecimento do fruto.

Material e métodos

No estudo da variabilidade genética caracterizada por marcadores moleculares RAPD (“*Random Amplified Polymorphic DNA*”), foram utilizados acessos de maracujazeiro-doce (nove acessos de população cultivada, oito acessos silvestres), um acesso de *Passiflora quadrangulares* e um acesso de *Passiflora edulis*. O DNA genômico de cada acesso foi extraído utilizando o método do CTAB, com modificações (Faleiro et al., 2003) e validado por Bellon et al. (2007). A concentração e a quantidade do DNA foram estimadas por espectrofotometria a 260 nm (Sambrook et al., 1989) e a relação A_{260}/A_{280} utilizada para avaliar a pureza e a qualidade do DNA extraído. *Primers* decâmeros foram utilizados para a obtenção de marcadores moleculares RAPD. 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 & Li (1979), utilizando-se o Programa Genes (Cruz, 1997) 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 auxílio do programa SAS (SAS institute Inc., 1989) e Statistica (Stat soft Inc, 1999).

Na avaliação da resistência à Bacteriose e à Virose do endurecimento dos frutos, os materiais genéticos utilizados foram 9 acessos de maracujazeiro doce, sendo sete obtidos de população cultivada (Tipo A, D, E, F, G, I, J) e dois acessos silvestres (Tipo N1 e N2).

A avaliação da resistência à bacteriose foi realizada em condições de campo e em casa de vegetação. Em condições de campo, foram analisadas cinco folhas por planta, selecionadas aleatoriamente, nas quais se avaliou o número médio de lesões por folha, o diâmetro médio das lesões, a média da área lesada por folha, a incidência de folhas sadias e a incidência de folhas sintomáticas. Em casa de vegetação, foi realizada a inoculação com o isolado 767 (UnB) de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* e avaliou-se o diâmetro longitudinal médio da lesão, diâmetro transversal médio da lesão, diâmetro médio da lesão e área lesada média aos 5, 10 e 15 dias após inoculação.

A avaliação da virose do endurecimento dos frutos também foi realizada em condições de campo e casa de vegetação. Em condições de campo, foi avaliado incidência e severidade da doença. Para avaliação da severidade utilizou-se escala de notas para planta e para folha. Em condições controladas de casa de vegetação, foi feita a inoculação mecânica em cada acesso e avaliou-se a porcentagem de plantas com sintomas da infecção viral (incidência).

Resultados e discussão

Os marcadores moleculares evidenciaram ampla variabilidade genética entre os acessos estudados. A partir da análise de agrupamento, com base nas distâncias genéticas os 19 acessos subdividiram-se em pelo menos, sete grupos de similaridade genética considerando o ponto de corte a uma distância genética de 0,15 (figura 1) Verificou-se que os acessos silvestres foram os que mais contribuíram para a ampliação da base genética dos materiais estudados.

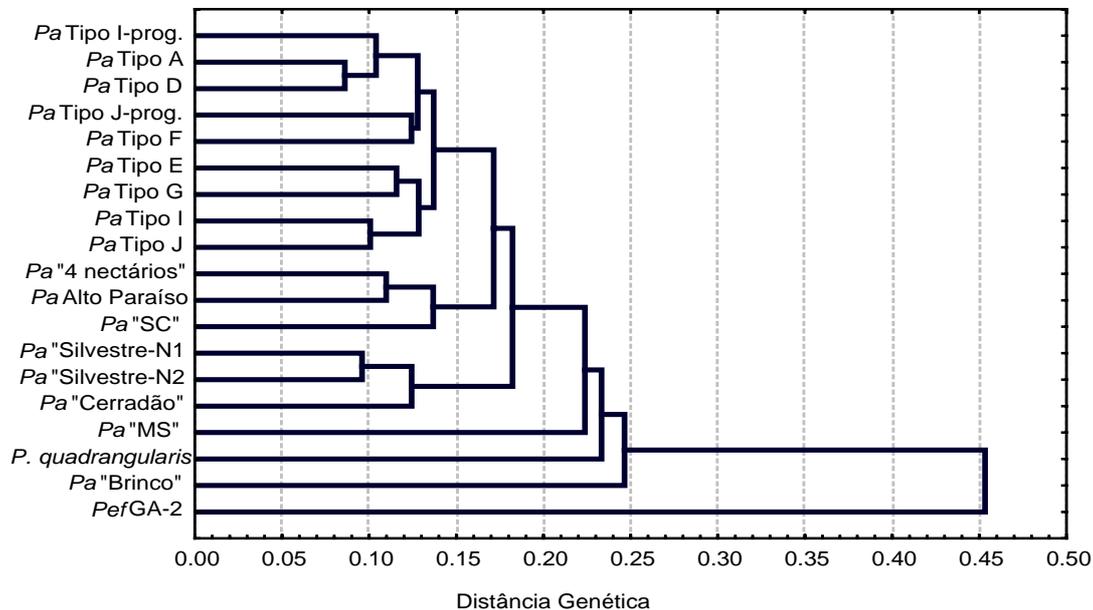
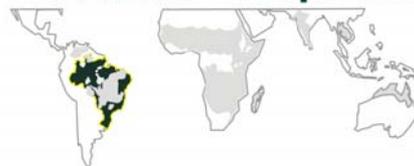


Figura 1. Análise de agrupamento de 19 acessos de maracujazeiro com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 140 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento

No estudo da resistência a bacteriose em condições de campo, não foi verificado efeito significativo entre as famílias a 5% de probabilidade, sendo constatada uma alta variação entre parcelas para todas as características avaliadas. Diferentemente do experimento em condições de casa de vegetação, verificou-se um efeito altamente significativo das famílias para todas as características avaliadas aos 10 e 15 dias após inoculação (Tabela 1). Os acessos que apresentaram maior grau de resistência foram o acesso tipo J seguido do acesso tipo D. Os acessos com maior grau de susceptibilidade foram o acesso N1 seguido dos acessos tipo F e J.

Tabela 1- Diâmetro Longitudinal Médio (DLM), Diâmetro Transversal Médio (DTM), Diâmetro Médio (DM) e Área Lesada Média (ALM) avaliados em nove famílias de meio-irmãos (FMI) de maracujazeiro doce, após 10 e 15 dias da inoculação com *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*.

FMI	Características Avaliadas							
	DLM (mm)		DTM (mm)		DM (mm)		ALM (mm ²)	
	10 dias	15 dias	10 dias	15 dias	10 dias	15 dias	10 dias	15 dias
Tipo J	7,63 a	14,31 a	9,46 a	14,13 a	8,54 a	14,22 a	36,17 a	100,19 a
Tipo D	10,15 b	16,04 ab	10,44 a	15,33 ab	10,29 b	15,69 ab	56,89 b	110,94 a
Tipo E	10,54 b	16,67 ab	11,9 bc	15,52 bc	11,22 bc	16,17 bc	53,64 b	118,83 ab



Silvestre N2	11,01 b	17,45 b	11,73 b	16,65 bc	11,37 bc	17,05 bc	62,14 b	136,69 ab
Tipo A	11,13 b	16,48 ab	13,00 c	16,1 bc	12,06 cd	16,3 bc	65,31 b	118,67 ab
Tipo I	12,65 c	18,71 b	12,88 c	16,81 c	12,76 d	17,76 c	80,82 c	152,56 b
Tipo G	13,58 cd	25,02 c	14,65 d	20,35 de	14,12 e	22,69 d	87,85 cd	234,45 c
Tipo F	14,42 d	25,75 c	15,69 de	19,38 d	15,05 ef	22,56 d	97,61 d	238,8 c
Silvestre N1	16,27 e	24,2 c	15,8 e	20,77 e	16,04 f	22,49 d	124,75 e	251,69 c

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Duncan

Em virtude da grande variabilidade genética entre as plantas, alta variação dentro das famílias foi observado tanto em campo como em casa de vegetação (Figura 2).

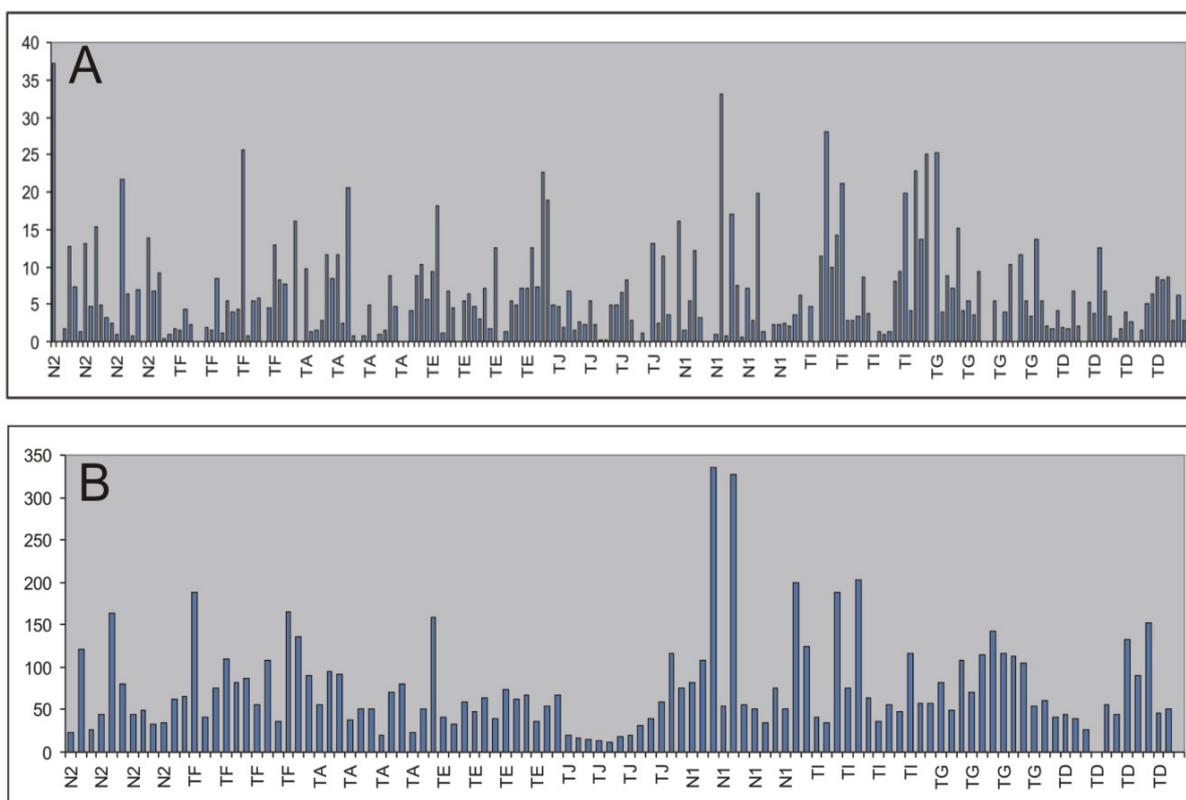


Figura 2.- Área lesada média por folha (cm^2) avaliada no campo (A) e Área lesada média (mm^2) avaliada em casa-de-vegetação (B) 10 dias após a inoculação

No estudo da resistência a virose do endurecimento do fruto, a porcentagem de plantas com expressão dos sintomas variou de 42 a 92% em condições de campo. Em condições de casa de vegetação, variou de 60 a 100%. Considerando apenas incidência, os acessos com maior grau de resistência tanto em campo como em casa de vegetação foram os acessos silvestres N1 e N2. Os acessos de população cultivada (Tipo A, D, E, F, G, I e J) foram os que apresentaram maior grau de suscetibilidade a virose. Nesses



acessos, observou-se que o número de plantas com sintoma de virose ultrapassou 63%, sendo que, em alguns casos, este valor alcançou 100%.

Conclusões

Ampla variabilidade genética foi verificada entre os acessos de *Passiflora alata* estudados. Os acessos silvestres foram os que mais contribuíram para a ampliação da base genética.

O acesso com maior grau de resistência à bacteriose foi o acesso tipo J, seguido do acesso tipo D. O acesso com maior grau de suscetibilidade foi o tipo N1, seguido dos acessos tipos F e G.

Maior grau de resistência à virose do endurecimento dos frutos foi verificado nos acessos silvestres N1 e N2. Os acessos de população cultivada (Tipo A, D, E, F, G, I, e J) foram os que apresentaram maior grau de suscetibilidade.

Pode-se verificar diferentes níveis de resistência a bacteriose e a virose do endurecimento dos frutos entre plantas de mesma família, ressaltando a importância da avaliação e da seleção de plantas individuais.

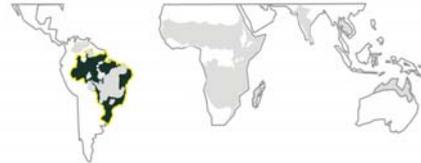
Referências bibliográficas

BELLON, G.; FALEIRO, F.G.; FERREIRA, C.F; KARIA, C.T; FONSECA, K.G; SANTOS, E.C ; SANTOS, J. R. P; TEIXEIRA, M.A; JUNQUEIRA, K.P. **Validação e otimização de protocolo simplificado para extração de DNA a partir de tecido**



Desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade,
agronegócio e recursos naturais

12 a 17 de outubro de 2008
ParlaMundi, Brasília, DF



foliar. In: 4^o Congresso Brasileiro de melhoramento de plantas, 2007, São Lourenço-MG, 2007.

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. (Comunicado Técnico N^o92) 6p.

FALEIRO, F. G. JUNQUEIRA, Nilton Tadeu Vilela ; BRAGA, Marcelo Fideles . Importância e avanços do pré-melhoramento de Passiflora.. In: Maurício Antônio Lopes; Alessandra P Fávero; Maria Aldete J F Ferreira; Fábio Gelape Faleiro. (Org.). **Curso Internacional de pré-melhoramento de plantas.** 1 ed. Brasília: Embrapa, 2006, v. , p. 138-142

INGLEZ DE SOUSA, J.S.; MELETTI, L.M.M. **Maracujá espécies, variedades e cultivo.** Piracicaba: FEALQ, v.3, 1997. 150p.

JUNQUEIRA, N. T. V.; PEIXOTO, J. R.; BRANCHER, A.; JUNQUEIRA, K. P.; FIALHO, J. F. Melhoramento genético do maracujá-doce. In: MANICA, I. et al. (Ed.). **Maracujá doce: tecnologia de produção, pós-colheita e mercado.** Porto Alegre: Cinco Continentes, 2005. p. 39-46.

OLIVEIRA J.C.; NAKAMURA,K.; MAURO,A.O.; CENTURION, M.A.P. da C. **Aspectos gerais do melhoramento do maracujazeiro.** In: SÃO JOSÉ, A.R. (Ed.). Maracujá: produção e mercado. Vitória da Conquista-BA: UESB-DFZ, 1994. p. 27-28.

SAMBROOK, J.;FRITSCH, E.F.;MANIATS, T. 1989. **Molecular cloning: a laboratory manual.** 2 ed. NewYork: Cold Spring Harbor. 653p.

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.

VASCONCELLOS, M. A. das; CEREDA, E. **O cultivo do maracujá doce.** In: SÃO JOSÉ. A .R. (Ed.). Maracujá: produção e mercado. Vitória da Conquista: UESB, 1994. p. 71-83.