

## Diversidade genética de acessos de *Nephelium lappaceum* L. através de caracterização morfológica e molecular

Renata Aparecida de Andrade<sup>1\*</sup>, Ester Wickert<sup>2</sup>, Antonio Baldo Geraldo Martins<sup>1</sup>,  
Mariana Macedo Costa de Andrade<sup>1</sup>, Eliana Gertrudes de Macedo Lemos<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Joticabal, SP, Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Tecnologia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Joticabal, SP, Brasil

\*Autor correspondente, e-mail: reandrad@fcav.unesp.br

### Resumo

O rambutan (*Nephelium lappaceum*) é uma frutífera exótica com grande potencial de mercado no Brasil. Entretanto, há poucas informações disponíveis acerca de plantas com potencial para cultivo, pois se observa grande variação morfológica entre plantas e por consequência, pouca uniformidade nos pomares e nos frutos. Este trabalho teve por objetivo avaliar a diversidade genética de uma coleção de plantas de rambutan obtidas por sementes através de análises morfo-químicas de plantas e frutos e por marcadores moleculares fAFLP, para indicação de materiais promissores a serem utilizados em novos plantios da cultura no Estado de São Paulo. Verificou-se que tanto os marcadores morfológicos como os moleculares foram eficientes na distinção de variedades, demonstrando a presença de variabilidade genética entre as plantas deste estudo. Verificou-se também que os materiais A51 e B03 apresentaram um maior conjunto de características desejáveis para novos cultivos da frutífera.

**Palavras chave:** rambutan, fAFLP, variabilidade genética

### *Nephelium lappaceum* L. genetic diversity by morphological and molecular characterization

### Abstract

The rambutan (*Nephelium lappaceum*) is an exotic fruit with great market potential in Brazil. However, there are few available informations about plants with potential for cultivation, because great morphologic variation is observed among plants and for consequence, little uniformity in the orchards and in the fruits. This research had for objective to evaluate the genetic diversity of a collection of rambutan plants obtained by seeds through morfo-chemical analyses of plants and fruits and by fAFLP molecular markers, to indication of promising materials to be used in new plantings of the culture in the São Paulo State. Was verified that both markers, morphologic and molecular, were efficient in the distinction of varieties, showing the presence of genetic variability among the plants of this study. Was also verified that the materials A51 and B03 presented a larger group of desirable characteristics for new cultivations of the fruitful.

**Key words:** rambutan, fAFLP, genetic variability

## Introdução

O rambutan (*Nephelium lappaceum* L.), nativo da região da Indonésia/Malásia e pertencente à família das Sapindáceas, é uma frutífera exótica com alto potencial de mercado. É uma espécie dióica, com árvores que possuem somente flores masculinas e árvores que possuem flores hermafroditas. As inflorescências são do tipo panícula axilares ou terminais com muitas flores unissexuais (Donadio et al., 1998). O fruto é uma drupa globosa ou ovóide produzida em cacho, possui casca delgada e coberta por protuberâncias ou espinhos flexíveis, semelhantes aos de urucum, que para rompê-la, uma pequena pressão é o suficiente. A polpa é branca, translúcida, adocicada e suculenta, variando em consistência, espessura e na facilidade de soltar-se da semente (Ferreira & Ribeiro, 2006).

O maior consumo desta fruta é *in natura*, porém pode ser utilizada na fabricação de geléias e compotas, além do que as sementes torradas podem ser consumidas como castanhas. O maior produtor brasileiro é o estado da Bahia (região de Itabuna/Ilhéus) e o maior mercado consumidor São Paulo, o que tem levado alguns produtores paulistas a instalar a cultura por mudas originadas de sementes e sem informações sobre o comportamento regional da planta. O Estado de São Paulo fornece frutos para comercialização de setembro a abril, período em que não há frutos oriundos da Bahia, o que ressalta o potencial paulista para o desenvolvimento da cultura (CEAGESP, 2008).

Observa-se uma considerável diversidade genética no rambutan, desde variação no crescimento e formato da árvore, coloração e tamanho das folhas, tipo e número de flor por panícula, coloração, textura, Brix, acidez e aderência do arilo à semente, tamanho e forma da semente, susceptibilidade a pragas e doenças, e tolerância ao frio e a seca (Tindall, 1994). As cultivares são basicamente diferenciadas pela coloração dos frutos, que varia de vermelho a amarelo, como também pela densidade e qualidade do arilo.

Os marcadores morfológicos são muito utilizados em estudos de genética e evolução, podendo utilizar diferentes caracteres, porém, o efeito do ambiente e a ação gênica são fatores que podem complicar a avaliação. No entanto, descritores morfológicos têm sido usados por diversos pesquisadores para a caracterização de germoplasma. Embora existam técnicas mais avançadas, os descritores são mais acessíveis e antecedem outras técnicas, permitindo a orientação do trabalho a ser realizado com descritores mais sofisticados, como os marcadores moleculares, que são utilizados com o objetivo de avaliar relações genéticas entre cultivares, espécies e híbridos intra e interespecíficos, além de serem usados na construção de mapas genéticos (Ritschel et al., 1998).

Os marcadores AFLP (Amplified

Fragment Length Polymorphisms) combinam técnicas de RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms) e de PCR (Polymerase Chain Reaction), são de caráter dominante, revelando altos níveis de polimorfismo com grande número de marcadores, atuando com precisão em análises de germoplasma. Possuem vantagens em relação às outras técnicas, tais como o alto nível de polimorfismos identificáveis e a alta reprodutibilidade da técnica (Yang et al., 2005). Outra vantagem da técnica é que os iniciadores utilizados nas reações de PCR são marcados com fluorocromos e o produto da reação é identificado por separação eletroforética em géis de poliacrilamida ou através de capilares de vidro contendo uma matriz, e a detecção de fluorescência é realizada através de laser permitindo a análise por softwares desenvolvidos especificamente para tal (Weising et al., 2005).

A fruticultura é uma área em constante desenvolvimento e exige realização de pesquisas permanentes que possam trazer conhecimentos indispensáveis à escolha de variedades e condução de pomares, com o intuito de atender as necessidades dos produtores, permitindo o maior desenvolvimento regional. Este trabalho teve por objetivo avaliar a diversidade genética de uma coleção de plantas de rambutan obtidas por sementes a partir de características morfológicas e por marcadores moleculares AFLP. Estas análises futuramente permitirão o desenvolvimento e a distinção de plantas promissoras que atendam às exigências do mercado consumidor, bem como gerar subsídios aos pequenos produtores, que no estado de São Paulo, procuram alternativas às culturas de citros e cana-de-açúcar.

## Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido no Departamento de Produção Vegetal e no Laboratório de Bioquímica de Microorganismos e Plantas do Departamento de Tecnologia - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - Campus de Jaboticabal/SP. Foram utilizadas 18 plantas de rambutan com 06 anos de idade, selecionadas fenotipicamente com base na juvenilidade apresentada, observada e analisada através da frutificação no ano de 2006. O pomar onde foi realizada a seleção de plantas e conseqüente coleta de material é constituído por mudas oriundas de sementes, provenientes de cultivos comerciais do estado da Bahia, o que resultou em grande variabilidade fenotípica entre as plantas.

As plantas foram denominadas de acordo com sua disposição no pomar: A04, A25, A51, A94, A113, B03, B10, B11, B13, B67, B72, B105, C69, D28, D67, E26, F08 e F16.

### Características morfológicas

Foram avaliados o diâmetro do tronco (cm), a altura (cm) e o diâmetro da copa (entre

linhas e entre plantas, em cm). Foram coletadas folhas em completo estágio de desenvolvimento (20 folhas de cada planta, divididas em 4 repetições, para fins de análise estatística) e avaliados o tamanho (comprimento e largura, em cm), número de folíolos, tamanho dos folíolos (comprimento e largura, em cm), comprimento da ráquis (cm), comprimento do pecíolo (cm) e área foliar (cm<sup>2</sup>).

Também foram coletados 40 frutos maduros de cada planta (4 repetições com 10 frutos cada) e avaliados o tamanho do fruto (comprimento e largura, em cm); comprimento dos filamentos (mm); espessura da casca (mm); tamanho da semente (comprimento e largura, em cm); peso fruto (gramas); peso da casca (gramas); peso da semente (gramas); porcentagem de polpa; teores de sólidos solúveis (°Brix), vitamina C e acidez. Realizaram-se ainda observações quanto à coloração da casca, filamentos e polpa; aderência da polpa à casca; aderência da polpa à semente e de tegumento da semente na polpa.

As avaliações de comprimento e largura de frutos e sementes, bem como comprimento dos filamentos e espessura da casca, foram realizadas com o auxílio de paquímetro digital. A determinação do teor de sólidos solúveis foi feita utilizando-se refratômetro manual, tendo-se a leitura direta do °Brix, enquanto os teores de vitamina C e acidez foram obtidos por titulação de 10 mL suco da polpa da fruta (realizando-se 4 repetições para cada planta), de acordo com AOAC (1995). Para vitamina C, a titulação foi realizada com iodo, calculando-se então o teor usando a fórmula: Vitamina C (mg/100g de suco concentrado) = (mL de iodo gasto na titulação \* 1,0432 \* 8,8 \* 0,85 \* 100) / 10. Para determinação da acidez, a titulação foi realizada com NaOH, e utilizou-se a equação: quantidade de ácido predominante no fruto (em gramas) por 100 g de fruto = (0,64 \* mL de NaOH gasto na titulação) / (mL de suco utilizado + 1/10 do valor dos sólidos solúveis).

#### *Análise por marcadores moleculares fAflp*

A etapa de preparação do material para extração de DNA consistiu em seleção das folhas jovens, sem manchas ou perfurações, as quais foram lavadas em água corrente e retiradas as nervuras, secas e maceradas em nitrogênio líquido, sendo armazenadas em recipientes hermeticamente fechados e acondicionadas em freezer a -20°C. A extração de DNA genômico dos tecidos vegetais foi realizada segundo descrito por Ferreira & Grattapaglia (1998). As amostras foram quantificadas em biofotômetro e além da concentração de DNA, observou-se a relação entre as leituras de absorvância medidas em 260 e 280 nm, que permitem inferir sobre a relação entre os teores de ácidos nucléicos e proteínas (Sambrook et al., 1989).

Os marcadores moleculares fAFLP foram

obtidos de acordo com o kit AFLP Plant Mapping Protocol (Applied Biosystems) seguindo instruções do fabricante. Foram realizados previamente testes de primers para avaliar e identificar a combinação de pares de "primers" que apresentassem o melhor padrão de bandas, com o maior número de bandas polimórficas e bom padrão de qualidade de imagem do gel para a observação de variabilidade genética das plantas em estudo. Dentre as 28 combinações testadas foram selecionadas quatro: ACG/CAC (Joe - fluorescência de coloração verde); ACT/CAT (Fam - fluorescência de coloração azul); ACA/CTT (Fam); e ACC/CTT (Ned - fluorescência de coloração amarela).

A eletroforese foi realizada em gel 5% denaturante Long Ranger usando TEB 1X como tampão de corrida. Foi utilizado uma placa de seqüenciamento de 36 cm, e 2,5 horas de tempo de corrida, a 2.500V, ccd 4 em um seqüenciador automático de DNA (ABI Prism 377), com padrão de tamanho molecular GeneScan-500 (ROX). O padrão interno de peso molecular Gene Scan-500 ROX utilizado possui 15 fragmentos determinantes de tamanho, com comprimento em pares de bases (pb) de 50, 75, 100, 139, 150, 160, 200, 250, 300, 340, 350, 400, 450, 490 e 500.

#### *Análise dos dados morfológicos*

Os dados de morfologia foram analisados utilizando-se o programa estatístico Genes (Cruz, 2001), de tal forma a obter o agrupamento dos materiais por similaridade. O método de agrupamento utilizado foi o UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average), obtendo-se o dendrograma através da distância de Mahalanobis. A contribuição relativa de cada variável para a divergência foi avaliada pelo método de Singh (Cruz & Carneiro, 2003).

#### *Análise dos dados moleculares*

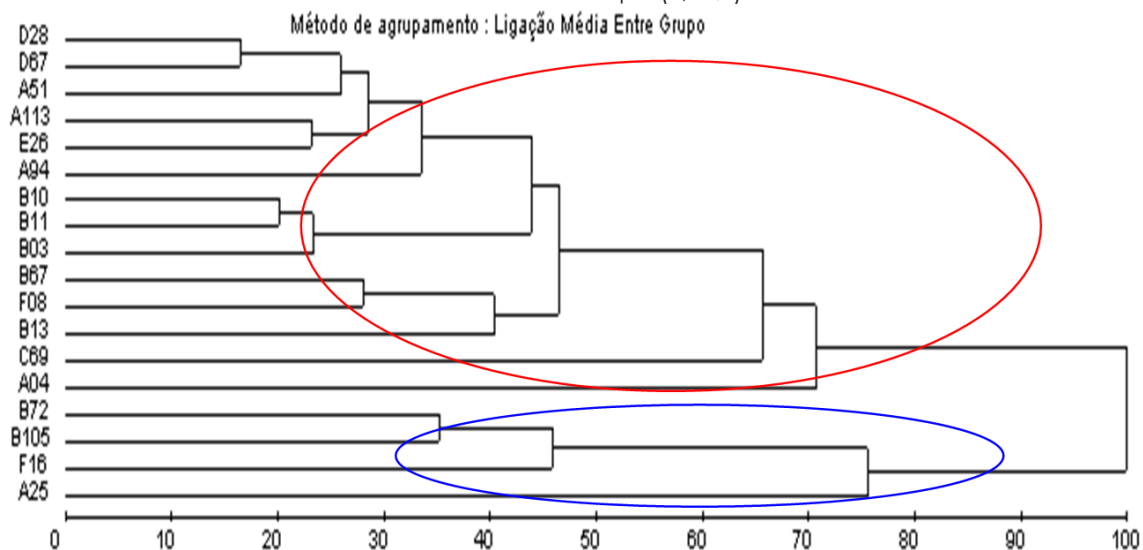
Os marcadores fAFLP selecionados para a análise apresentavam tamanho entre 50 e 500 pares de bases. Os softwares GeneScan (ABI Prism versão 1.0) e Genotyper (ABI Prism versão 1.03) foram utilizados para a coleta dos dados e transformação dos mesmos em uma matriz binária, com o número 1 significando presença de banda e 0 ausência. Dados perdidos foram identificados pelo caractere '?' (ponto de interrogação). A matriz binária foi convertida em uma matriz de distância com auxílio do software Paup [Phylogenetic Analysis Using Parsimony, versão 4.0b10] (Swofford, 2002). A matriz de distância foi utilizada para a construção do dendrograma para a visualização das relações genéticas estabelecidas entre as diferentes plantas. O dendrograma foi construído pelo método da Distância e algoritmo UPGMA pelo software Mega 3.1 – Molecular Evolutionary Genetics Analysis (Kumar et al., 2004).

## Resultados e Discussão

As análises morfológicas e moleculares realizadas nas 18 plantas selecionadas para este estudo permitiram a diferenciação das mesmas entre si, bem como agrupar as mesmas de acordo com a similaridade.

As análises morfológicas possibilitaram a construção do dendrograma apresentado na Figura 1, observando-se grande variabilidade genética entre os materiais quando todas as variáveis são analisadas conjuntamente. As plantas deste estudo dividiram-se em dois grandes grupos, com distância genética superior a 0.70. Os materiais D28 e D67 apresentaram

maior similaridade entre si, com uma distância genética menor que 0.20, sendo que os demais apresentaram distâncias médias entre 0.20 e 0.50. Para verificar a contribuição individual de cada variável, as mesmas foram analisadas separadamente, verificando-se que as variáveis contribuem de forma diferenciada para a divergência genética observada (Tabela 1). Assim sendo, verificou-se que a variável largura do fruto exerceu maior influência na divergência entre os materiais (24,54%), seguida pelo peso da casca (16,24%), comprimento do fruto (9,89%) e porcentagem de polpa (9,76%). A menor influência foi verificada pelo comprimento da ráquis (0,04%).



**Figura 1.** Dendrograma de distância genética (UPGMA - Mahalanobis) entre 18 plantas de rambutan, obtido pelo conjunto de caracteres morfológicos e físico-químico avaliados.

As observações quanto coloração da casca, filamentos e polpa; aderência da polpa à casca; aderência da polpa à semente e presença de tegumento da semente na polpa (Tabela 2), encontraram diferenças marcantes entre os materiais. Os frutos de coloração vermelha e com ausência de tegumento da semente na polpa são considerados mais promissores por atenderem as exigências do mercado consumidor *in natura* (CEAGESP, 2008). Atendendo a estas solicitações de mercado, dos materiais deste estudo, as plantas A51 e B03 apresentaram um maior conjunto de características desejáveis.

Desta forma, verifica-se que a caracterização morfológica é de suma importância, consistindo em fornecer identidade para cada material através do conhecimento de uma série de dados que permitam estudar a variabilidade genética de cada amostra (Ramos & Queiroz, 1999). Esse tipo de análise é mais simples e de menor custo (Ballve et al., 1997), embora apresente limitações relacionadas aos caracteres que apresentam herança aditiva, que são altamente influenciados pelo ambiente, e às cultivares com grande semelhança fenotípica (Oliveira et al., 2000), conforme observado em rambutan.

Para diversas frutíferas, como por exemplo, a carambola (Andrade & Martins, 2007), a distinção entre variedades pode ser realizada com base em aspectos morfológicos das folhas, o que permite a diferenciação mesmo quando estas não apresentam flores e/ou frutos. Para rambutan, no entanto, verificou-se uma grande distância genética entre a maioria dos materiais quando agrupados segundo os caracteres morfológicos deste estudo, dificultando uma distinção visual dos materiais.

A caracterização morfológica foi realizada para diferentes espécies de plantas, com baru (Ferreira et al., 1998), *Sapindus saponaria* (Paoli & Santos, 1998), amendoim-silvestre (Oliveira & Valls, 2003), batata-doce (Daros et al., 2002), bálsamo (Duarte & Zaneti, 2002), guariroba (Nascente, 2003) e maracujá-roxo (Meletti et al., 2005), e em alguns casos permitiu inclusive a distinção de variedades. Isto evidencia a importância do conhecimento e da utilização das características visuais e mensuráveis na diferenciação de plantas.

Os estudos sobre morfologia de plântulas têm merecido atenção há algum tempo, quer seja como parte de estudos morfo-anatômicos, objetivando ampliar o conhecimento sobre

**Tabela 1.** Contribuição geral, em porcentagem, de cada variável avaliada, para a divergência entre as plantas de rambutan selecionadas.

Variável	Contribuição (%) para a divergência entre os materiais analisados
Largura do fruto	24,54
Peso da casca	16,24
Comprimento do fruto	9,89
Porcentagem de polpa	9,76
Espessura da casca	7,74
Peso do fruto	6,10
°Brix	5,82
Acidez	4,00
Comprimento dos filamentos	3,04
Comprimento da folha	2,36
Comprimento dos folíolos	1,59
Área foliar	1,57
Comprimento do pecíolo	1,50
Número de folíolos	1,25
Peso das sementes	1,22
Vitamina C	1,09
Largura das sementes	0,93
Largura da folha	0,68
Largura dos folíolos	0,45
Comprimento das sementes	0,19
Comprimento da ráquis	0,04

**Tabela 2.** Coloração da casca de frutos maduros de rambutan (1 – vermelho; 2 – vermelho-amarelado; 3 – amarelo; 4 – vermelho-alaranjado); coloração dos filamentos (na base: 1 – vermelho; 2 – amarelo; na extremidade: 1 – vermelho; 2 – amarelo; 3 – verde); aderência da polpa à semente (1 – ausente; 2 – pouca; 3 – muita); aderência do tegumento da semente à polpa (1 – ausente; 2 – pouca; 3 – média; 4 – muita).

Planta	Cor da casca do fruto maduro	Cor do filamento (base)	Cor do filamento (extremidade)	Aderência da polpa à semente	Aderência do tegumento da semente à polpa
<b>A 04</b>	1	1	2	1	2
<b>A 25</b>	1	1	1	1	4
<b>A 51</b>	1	1	3	1	1
<b>A 94</b>	1	1	3	1	4
<b>A 113</b>	2	1	3	1	3
<b>B 03</b>	1	1	3	1	3
<b>B 10</b>	1	1	3	1	4
<b>B 11</b>	2	1	3	3	1
<b>B 13</b>	1	1	3	3	1
<b>B 67</b>	2	1	1	2	1
<b>B 72</b>	1	1	3	2	2
<b>B 105</b>	1	1	3	1	3
<b>C 69</b>	3	2	2	1	3
<b>D 28</b>	1	1	3	2	4
<b>D 67</b>	1	1	3	1	2
<b>E 26</b>	4	1	3	2	2
<b>F 08</b>	4	1	3	2	3
<b>F 16</b>	1	1	3	1	4

determinada espécie ou grupamento sistemático vegetal, ou então visando o reconhecimento e identificação de plântulas de determinada região dentro de um enfoque ecológico (Oliveira, 1993). No caso do rambutan, como ainda é praticamente desconhecido no Brasil, inclusive quanto a aspectos morfológicos para as condições do Estado de São Paulo, tal caracterização mostra-se importante, sendo possível verificar-se diferenças morfológicas e visuais basicamente quando as plantas encontram-se em frutificação, pois há grande diferença e variabilidade no aspecto dos frutos.

A caracterização molecular objetivando detecção de diversidade genética entre diferentes plantas também foi realizada em cana-de-açúcar (Lima, 1998), soja (Maughan et al., 1996), maracujazeiro-amarelo (Ganga et al., 2004), mini-roseiras (Beckmann et al., 2006), citros (Bastianel et al., 2006) e *Arachis retusa* (Gagliardi

et al., 2007). Da mesma forma, a avaliação de características morfológicas e moleculares foi relatada em morangueiro (Conti et al., 2002), jabuticabeira (Pereira et al., 2005) e em melancia (Silva et al., 2006).

Os marcadores moleculares fAFLP também permitiram a discriminação dos genótipos deste estudo em dois grupos (Figura 2), embora as plantas tenham se apresentado com uma distância genética inferior quando comparada com a análise morfológica. Verificou-se que a menor distância foi apresentada entre as plantas B13 e B105 e também entre D67 e E26, ambas com distância de cerca de 0.07, demonstrando que estes materiais possuem maior similaridade genética entre si. A distância genética média entre as plantas deste estudo foi de cerca de 0.12, mostrando que há uma considerável variabilidade entre as plantas.

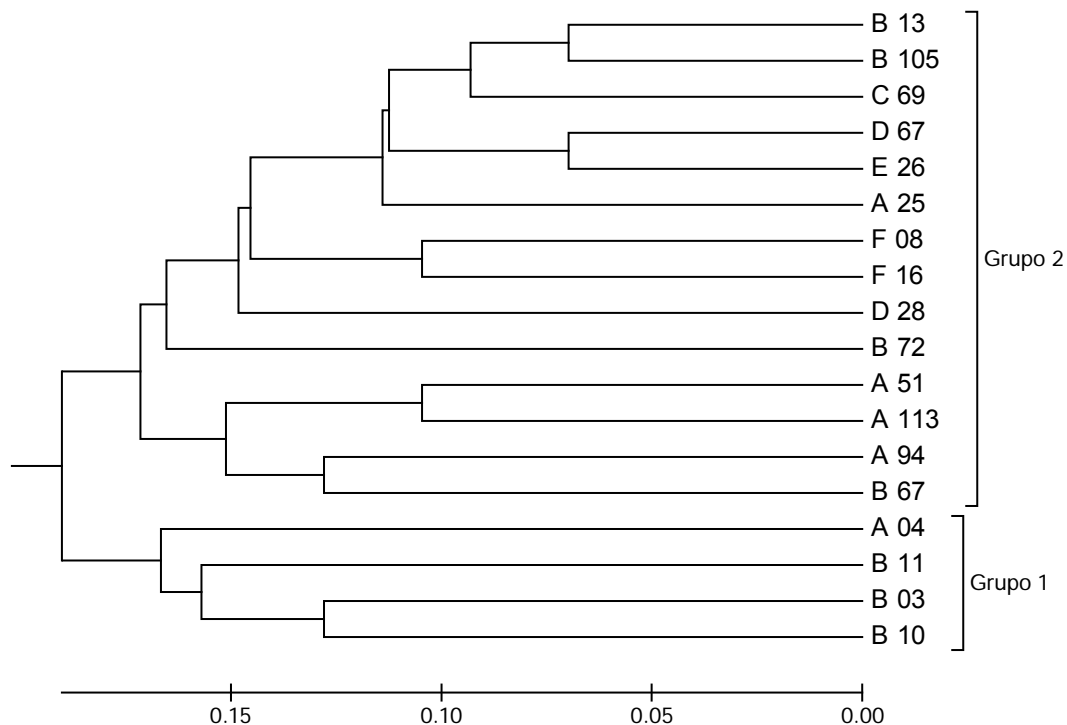


Figura 2. Dendrograma obtido por fAFLP para plantas de rambutan (UPGMA).

Considerando que o algoritmo utilizado para análise dos dados morfológicos (Mahalanobis) é conceitualmente diferente do utilizado para os dados moleculares (UPGMA), não é apropriado realizar comparações dos métodos em relação ao poder de discriminação entre os acessos. Entretanto, quando dados morfológicos e moleculares são analisados em conjunto, verifica-se que houve pouca correlação entre ambos, ou seja, materiais com maior similaridade de acordo com os dados morfológicos poucas vezes mostraram-se próximos entre si também com marcadores moleculares. Exceção feita às plantas B3, B10 e B11, que se agruparam em ramos próximos em ambos os dendrogramas.

Ambas as análises concordaram que não há genótipos idênticos entre as 18 plantas deste estudo. Entretanto, observa-se uma grande variação entre a variabilidade genética amostrada pelas diferentes análises. Este fato pode ser explicado em função de que características morfológicas são produtos da expressão da interação entre genótipo e ambiente, e no caso das plantas de rambutan deste estudo, da interação genótipo/ambiente ao longo do tempo, uma vez que as plantas desta análise tem cerca de 6 anos e caracteres estruturais de arquitetura de planta podem ser afetados.

Assim, verifica-se que apesar de

resultados diferenciados quando da aplicação das duas análises, a caracterização por ambos os marcadores é importante, uma vez que ambos avaliam características diferentes. Marcadores morfológicos e moleculares podem ser complementares quando há interesse em realizar seleção de material a ser submetido a programas de melhoramento genético ou mesmo para discriminação, identificação e caracterização de genótipos potenciais para serem designados como variedades, como no caso do rambutan.

Estudos morfológicos são de grande importância por permitirem a avaliação de características quantitativas influenciadas por condições ambientais (como tamanho de fruto e intensidade de coloração) ou fisiológicas da planta. Já a principal vantagem da utilização de marcadores moleculares reside no fato de que não são afetados pelas condições ambientais e no caso de específico de marcadores fAFLP, os mesmos estão distribuídos aleatoriamente ao longo de todo o genoma do indivíduo, permitindo uma amostragem ampla e simultânea da variabilidade genética.

No caso específico do rambutan, a caracterização morfológica torna-se ainda mais interessante, pois avalia características desejáveis pelo mercado consumidor como coloração e tamanho do fruto, além de sabor e pouca ou nenhuma aderência da semente na polpa do fruto, ou ainda interessantes para o produtor, como porte da planta e precocidade de produção. Já os marcadores moleculares podem auxiliar na manutenção da identidade genética de genótipos promissores propagados vegetativamente, o que garantiria a manutenção das características de fruto desejáveis pelo mercado consumidor. Ressalta-se ainda que é comum ocorrer desconexões entre a obtenção e os estudos de caracterização de genótipos promissores, principalmente em algumas frutíferas, em função do tempo necessário para o início da produção e amadurecimento dos primeiros frutos, motivo pelo qual esta caracterização torna-se ainda mais importante, principalmente para caracteres desejáveis de incorporação em cultivares (Ferguson, 2007).

Relatos anteriores ressaltam que as plantações oriundas de sementes apresentam uma alta frequência de plantas masculinas, grande variabilidade genética e produção tardia (Ferreira & Ribeiro, 2006). Dessa forma, este estudo demonstrou a existência de variabilidade genética entre as plantas, o que pode não ser interessante sob o ponto de vista do produtor, sendo recomendável a não utilização de plantas oriundas de sementes para a formação de pomares. Por outro lado, a existência desta mesma variabilidade é muito importante para a formação de variedades.

As plantas A51 e B03, consideradas promissoras sob o ponto de vista de características morfológicas para consumo de fruto *in natura*

mostraram-se geneticamente diferenciadas. Este fato pode ser considerado interessante, uma vez que permite a possibilidade de plantios comerciais com uniformidade de características de fruto e com menor identidade genética para outras características, evitando assim, cultivos extensos de plantas geneticamente idênticas, e todos os problemas de vulnerabilidade associados a estes cultivos, ainda mais em se tratando de plantas perenes.

### Conclusões

Tanto a caracterização morfológica quanto a molecular permitiram a distinção de todas as plantas deste estudo.

A caracterização morfológica identificou plantas com potencial para tornarem-se variedades.

As plantas A51 e B03 apresentam um maior conjunto de características desejáveis para constituírem-se em variedades.

Marcadores fAFLP foram eficientes em demonstrar que os genótipos A51 e B03 são geneticamente distintos.

### Agradecimentos

À FAPESP, pela concessão de bolsa de Pós-doutoramento (Processo número 05/58114-5) e auxílio financeiro (Processo número 06/57102-6) para realização do projeto de pesquisa.

### Referências

- Andrade, R.A., Martins, A.B.G. 2007. Aspectos morfológicos de folhas na diferenciação de variedades de carambola. *Revista Brasileira de Fruticultura* 29: 386-388.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. 1995. *Official methods of analysis of the association of official analytical chemistry*. Washington. 16<sup>th</sup> ed. 1141p.
- Ballve, R.M.L., Medina-Filho, H.P., Bordignon, R. 1997. Identification of reciprocal hybrids in citrus by the broadness of the leaf petiole wing. *Brazilian Journal of Genetics* 20: 697-702.
- Bastianel, M., Oliveira, A.C., Cristofani, M., Machado, M.A. 2006. Diversidade genética entre híbridos de laranja-doce e tangor 'Murcot' avaliada por fAFLP e RAPD. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41: 779-784.
- Beckmann, M.Z., Luz, F.J.F., Pivetta, K.F.L. 2006. Marcador fAFLP na identificação da diversidade genética de mini-roseiras. *Revista Biologia e Ciências da Terra* 6: 139-144.
- CEAGESP. Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo. 2008. *Sistema de Informação de Mercado, São Paulo: Seção de Economia e Desenvolvimento*, não publicado.
- Conti, J.H., Minami, K., Tavares, F.C.A. 2002. Comparação de caracteres morfológicos e

- agronômicos com moleculares em morangueiros cultivados no Brasil. *Horticultura Brasileira* 20: 419-423.
- Cruz, C.D. 2001. *Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística versão Windows*. UFV, Viçosa, Brasil. CD-ROM.
- Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S. 2003. *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. UFV, Viçosa, Brasil. 585 p.
- Daros, M., Amaral Júnior, A.T., Pereira, T.N.S., Leal, N.R., Freitas, S.P., Sedyama, T. 2002. Caracterização morfológica de acessos de batata-doce. *Horticultura Brasileira* 20: 43-47.
- Donadio, L.C., Nachtigal, J.C., Sacramento, C.K. 1998. *Frutas exóticas*. Funep, Jaboticabal, Brasil. 279 p.
- Duarte, M.R., Zaneti, C.C. 2002. Morfoanatomia de folhas de bálsamo: *Sedum dendroideum*. *Revista Lecta* 20: 153-160.
- Ferguson, A.R. 2007. The need for characterisation and evaluation of germplasm: kiwifruit as an example. *Euphytica* 54: 371-382.
- Ferreira, M.E., Grattapaglia, D. 1998. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. 3 ed. EMBRAPA-CENARGEN, Brasília, Brasil. 220 p.
- Ferreira, R.A., Botelho, S.A., Davide, A.C., Malavasi, M.M. 1998. Caracterização morfológica de fruto, semente, plântula e muda de *Dipteryx alata* Vogel - baru (Leguminosae - Papilionoideae). *Cerne* 4: 73-87.
- Ferreira, M.G.R., Ribeiro, G.R. 2006. *Coleção de fruteiras tropicais da Embrapa Rondônia*. EMBRAPA, Porto Velho, Brasil. 14 p. (Boletim Técnico 306).
- Gagliardi, R.F., Hanai, L.R., Pacheco, G., Oliveira, C.A., Carneiro, L.A., Valls, J.F.M., Mansur, E., Vieira, M.L.C. 2007. Assessment of genetic among in vitro plants of *Arachis retusa* using RAPD and AFLP markers for germplasm preservation. *Journal of Integrative Plant Biology* 49: 307-312.
- Ganga, R.M.D., Ruggiero, C., Lemos, E.G.M., Grili, G.V.G., Gonçalves, M.M., Chagas, E.A., Wickert, E. 2004. Diversidade genética em maracujazeiro-amarelo utilizando marcadores fAFLP. *Revista Brasileira de Fruticultura* 26: 494-498.
- Kumar, S., Tamura, K., Nei, M. 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5: 150-163.
- Lima, M.L.A. 1998. Estudo da diversidade genética entre variedades de cana-de-açúcar utilizando marcadores moleculares tipo AFLP. *Genetics and Molecular Biology* 21:181.
- Maughan, P.J., Saghai Maroof, M.A., Buss, G.R., Huestis, G.M. 1996. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) in soybean: species diversity, inheritance, and near-isogenic line analysis. *Theoretical and Applied Genetics* 93: 392-401.
- Meletti, L.M.M., Soares-Scott, M.D., Bernacci, L.C. 2005. Caracterização fenotípica de três seleções de maracujazeiro-roxo (*Passiflora edulis* Sims). *Revista Brasileira de Fruticultura* 27: 268-72.
- Nascente, A.S. 2003. Caracterização morfológica de progênies nativas de guariroba (*Syagrus oleracea* Becc.) no Estado de Goiás. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 33: 113-115.
- Oliveira, E.C. 1993. Morfologia de plântulas. In: Aguiar, I.B., Piña-Rodrigues, F.C.M., Figliolia, M.B. (eds.) *Sementes florestais tropicais*. ABRATES, Brasília, Brasil. p.175-214.
- Oliveira, R. P., Novelli, V. M., Machado, M. A. 2000. Frequência de híbridos em cruzamento entre tangerina 'Cravo' e laranja 'Pêra': análise de marcadores morfológicos e RAPD. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35: 1895-1903.
- Oliveira, M.A.P., Valls, J.F.M. 2003. Morphological characterization and reproductive aspects in genetic variability studies of forage peanut. *Scientia Agricola* 60: 299-304.
- Paoli, A.A.S., Santos, M.R.O. 1998. Caracterização morfológica de frutos, sementes e plântulas de *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae). *Revista Brasileira de Sementes* 20: 147-53.
- Pereira, M., Oliveira, A.L., Pereira, R.E.A., Sena, J.A.D., Costa, J.R.V., Almeida, M., Gonçalves, A.N. 2005. Morphologic and molecular characterization of *Myrciaria* spp species. *Revista Brasileira de Fruticultura* 27: 507-510.
- Ramos, S.R.R., Queiroz, M.A. 1999. Caracterização morfológica: experiência do BAG de cucurbitáceas da Embrapa Semi - Árido, com acessos de abóbora e moranga. *Horticultura Brasileira* 17: 9-12.
- Ritschel, P.S., Thomazelli, L.F., Huamán, Z. 1998. *Caracterização morfológica do germoplasma de batata-doce mantido pela EPAGRI*. <http://www.cnpq.embrapa.br/pa/pa16.html> <Acesso em 18 Jun. 2009>
- Sambrook, L., Fritsch, E.F., Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, USA.
- Silva, M.L., Queiróz, M.A., Ferreira, M.A.J.F., Buso, G.S.C. 2006. Caracterização morfológica e molecular de acessos de melancia. *Horticultura Brasileira* 24: 405-409.



Swofford, D. L. 2002. *PAUP*: phylogenetic analysis using parcimony (and other methods). Version 4.0 b 10 (Alvitec). Sinauer Associates, Sunderland, USA. CD-ROM

Tindall, H.D. *Rambutan cultivation*. 1994. FAO, Rome, Italy. 163 p. (Plant Production and Protection Paper 121).

Yang, C., Zhang, J., Xu, Q., Xiong, C., Bao, M. 2005. Establishment of AFLP technique and assessment of primer combinations for mei flower. *Plant Molecular Biology Reporter* 23: 790-791.

Weising, K., Nybon, H., WOLFF, K., Kahl, G. 2005. *DNA fingerprint in Plants: principles, methods and applications*. 2nd. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA. 444 p.