

Identificação de híbridos entre cultivares de manga via marcador de DNA AFLP

Identification of hybrids obtained between mango cultivars based on AFLP DNA markers

Marciane Amorim Rodrigues¹; Carlos Antonio F. Santos²; Roberta Sâmara Nunes de Lima³; Francisco Pinheiro Lima Neto⁴

Resumo

O programa de melhoramento genético da manga na Embrapa Semi-Árido visa desenvolver novas cultivares da espécie, tendo como um dos parentais a 'Tommy Atkins'. O objetivo do presente trabalho foi a identificação de indivíduos resultantes de polinização cruzada com a 'Tommy Atkins' e de autofecundação da 'Haden', provenientes de frutos colhidos de uma única planta 'Haden' circundada exclusivamente por plantas de 'Tommy Atkins', através do uso do marcador de DNA AFLP, para orientação dos trabalhos de genética e melhoramento da manga no Vale do São Francisco. O DNA de 124 indivíduos e dos parentais foi digerido com as enzimas *Eco R1* e *Mse1* e fenotipado com quatro combinações de primers de AFLP. O número total de bandas polimórficas observadas foi de sete/primers de AFLP. Sete bandas de AFLP presentes na 'Tommy Atkins' e ausentes na 'Haden' foram anotadas para identificação dos híbridos e estimação da taxa de polinização cruzada. Das sete bandas de AFLP anotadas, cinco apresentaram a segregação de 1:1 e duas de

¹Estudante de Biologia, Bolsista CNPq/Embrapa Semi-Árido, Cx. Postal 23, 56302-970, Petrolina-PE; ²Eng^o Agr^o, Ph.D, Pesquisador da Embrapa Semi-Árido, casantos@cpatsa.embrapa.br; ³Bióloga, Bolsista do CNPq/Embrapa Semi-Árido; ⁴Eng^o Agr^o, D.Sc. Pesquisador da Embrapa Semi-Árido.

3:1. A taxa de polinização cruzada foi estimada em 87%, sendo que, dos 124 indivíduos analisados, 108 foram identificados como híbridos de 'Haden' x 'Tommy Atkins', os quais serão incorporados ao processo de seleção para o desenvolvimento de novas cultivares e empregados em estudos genéticos.

Palavras-chaves: *Mangifera indica*, parentesco, Tommy Atkins, Haden.

Introdução

O Vale do São Francisco é responsável por mais de 90% das exportações nacionais de mangas. Das mais de 110 mil toneladas embarcadas pelo Brasil, em 2005, aos diversos mercados internacionais, que proporcionaram ao país uma receita superior a 70 milhões de dólares, a região contribuiu com quase 105 mil toneladas, propiciando mais de 65 milhões de dólares do referido montante arrecadado, de acordo com o Ministério de Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior e o Instituto Brasileiro de Frutas. A safra de 2005, na região, foi estimada em aproximadamente 350 mil toneladas, produzidas em uma área cultivada superior a 20 mil hectares e concentradas na variedade 'Tommy Atkins' em uma proporção equivalente a quase 95% da área cultivada (Anuário Brasileiro da Fruticultura, 2006).

A cultivar 'Tommy Atkins' apresenta como aspectos positivos, boa coloração, boa resistência ao transporte e ausência de incompatibilidade na floração e, como aspectos negativos, freqüente incidência do colapso interno, malformação floral e sabor inferior quando comparado com outros genótipos. Além do mais, o cultivo de uma única cultivar torna o agronegócio vulnerável ao ataque de pragas e de doenças e às alterações na preferência do mercado (Wyzykowsky et al., 2002). Há também indícios de que os importadores europeus começam a solicitar outras cultivares de mangueira.

O programa de melhoramento genético da mangueira na Embrapa Semi Árido considera o estabelecimento de progênies de irmãs completas, oriundas da polinização livre, em pomares comerciais de 'Tommy Atkins', de plantas isoladas de outras cultivares. Deve ser destacado que a mangueira é uma espécie que apresenta em torno de 80% de polinização cruzada (Degani et al., 1997).

O objetivo do presente trabalho foi a identificação de indivíduos resultantes de polinização cruzada com a 'Tommy Atkins' e de autofecundação da 'Haden',

provenientes de frutos colhidos de uma única planta 'Haden' circundada exclusivamente por plantas de 'Tommy Atkins', através do uso do marcador de DNA AFLP, para orientação dos trabalhos de genética e melhoramento da mangueira no Vale do São Francisco.

Material e Métodos

Foram identificadas plantas de diferentes cultivares de mangueira isoladas dentro de áreas comerciais de 'Tommy Atkins'. A presença de plantas de diferentes cultivares pode ter sido devido à morte do enxerto e ao rebrote do porta-enxerto, a erros no processo de enxertia ou na separação de mudas ou mesmo à substituição da copa por outra cultivar. Assegurou-se uma distância mínima de 150 m entre cultivares isoladas diferentes para colheita de frutos e estabelecimento de progênies.

Foram estabelecidas, na Estação Experimental de Mandacaru, em 2002, oito populações, tendo como progenitoras as cultivares 'Haden', 'Van Dyke', 'Kent' e 'Espada', além de dois genótipos desconhecidos. Foram selecionados para o presente estudos 124 descendentes do provável cruzamento 'Haden' x 'Tommy Atkins'.

Para a identificação dos indivíduos resultantes de autofecundação ou de polinização cruzada, assumindo uma taxa de polinização cruzada na mangueira em torno de 79% (Degani et al., 1997), foi empregado o marcador dominante AFLP, de acordo com o protocolo estabelecido por Vos et al. (1993), com pequenos ajustes para o volume final, entre os quais a coloração com nitrato de prata, conforme descrito por Creste et al. (2001). A extração do DNA para a cultivar 'Haden' e seus descendentes e uma planta 'Tommy Atkins', coletada na proximidade da planta materna, foi realizada pelo método do CTAB 2x.

Foram anotadas como marcadores fenotípicos para separação dos produtos de autopolinização e de polinização cruzada, todas as bandas de AFLP positivas na 'Tommy Atkins' e ausentes na 'Haden'. Testes de qui-quadrado (χ^2) assumindo a segregação de 1:1 ou de 3:1, foram efetuados para todas as bandas de AFLP anotadas.

Resultados e Discussão

Foram observadas sete bandas bem definidas presentes no provável polinizador, 'Tommy Atkins', e ausentes na planta materna, 'Haden' (Fig. 1). O número total de bandas polimórficas observadas foi de sete/combinção de primers AFLP.

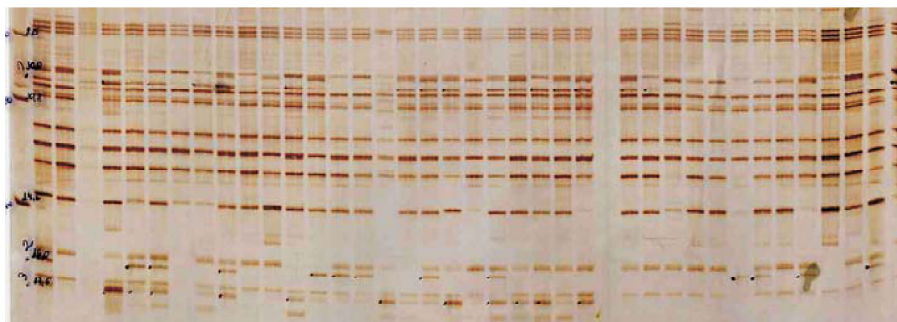


Fig. 1. Padrão de bandas de AFLP da combinação E ACC / M CTA. Primeira coluna: marcador padrão de DNA; segunda coluna: 'Tommy Atkins'; terceira coluna: 'Haden' e as demais linhas descendentes.

Cinco bandas de AFLP presentes na cultivar Tommy Atkins e ausentes na 'Haden' apresentaram segregação de 1:1, enquanto outras duas apresentaram segregação de 3:1 (Tabela 1). A segregação 1:1 era esperada, pois o genitor feminino da 'Tommy Atkins' foi a 'Haden' (Knight Junior, 1997), configurando-se uma situação de retrocruzamento. A segregação 3:1 pode ser devida a mutações ocorridas na 'Tommy Atkins', que vem sendo propagada vegetativamente por muito tempo. Outra hipótese levantada é a de que a planta clonada para a formação da área comercial tenha sido oriunda de uma semente de uma planta 'Tommy Atkins'.

Tabela 1. Números de bandas presentes (1) e ausentes (0), falhas e testes qui-quadrado (χ^2) para segregação 1:1 e 3:1 com sete bandas de AFLP anotadas em 108 indivíduos, tendo como genitor feminino a 'Haden' (banda ausente) e possível genitor masculino a 'Tommy Atkins' (banda presente).

| Marcas | Números de indivíduos | | Falhas | Qui-Quadrado (χ^2) | |
|----------------|-----------------------|----|--------|---------------------------|-------------------|
| | 1 | 0 | | 1:1 | 3:1 |
| E ACC/ M CTA-1 | 28 | 75 | 5 | 21,4** | 0,2 ^{ns} |
| E ACC/ M CTA-2 | 62 | 41 | 5 | 4,2 ^{ns} | 68,0** |
| E ACC/ M CTA-3 | 51 | 52 | 5 | 0,1 ^{ns} | 33,0** |
| E ACA/M CTA 1 | 33 | 75 | 0 | 16,3** | 1,7 ^{ns} |
| E ACG/M CTG-1 | 55 | 47 | 6 | 0,6 ^{ns} | 45,5** |
| E ACT/ E CAC-1 | 61 | 37 | 10 | 5,8 ^{ns} | 72,5** |
| E ACT/ E CAC-2 | 43 | 55 | 10 | 1,4 ^{ns} | 18,6** |

** e ^{ns} = significativo e não-significativo, respectivamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste do qui-quadrado (χ^2).

Identificação de híbridos entre cultivares de mangueira via marcador de DNA AFLP

Deve ser destacado que marcadores moleculares dominantes têm sido usados com limitações para estudos de paternidade, mas, em casos específicos como o que se configura um retrocruzamento, podem ser usados, tendo como referências estimativas simples de herança Mendeliana. Para situações mais complexas de paternidade, Gerber et al. (2003) publicaram um software que exclui e estima a probabilidade logarítmica máxima de verossimilhança para qualquer relação genética com marcadores dominantes.

A taxa de polinização cruzada foi estimada em 87%, pois, dos 124 indivíduos avaliados com as sete bandas de AFLP, 108 apresentaram pelo menos a presença de duas bandas, contrastando com 10 que apresentaram apenas uma banda e com 6 que não apresentaram nenhuma banda. A taxa encontrada é próxima da reportada por Degani et al. (1997), que estimaram uma taxa de polinização cruzada de 79% entre 'Maya' e 'Tommy Atkins'.

Referências Bibliográficas

- ANUÁRIO Brasileiro da Fruticultura 2006. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2006. 136 p. il.
- CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrilamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, Athens, v. 19, n. 4, p. 299-306, 2001.
- DEGANI, C.; YUTKO, O.; EL-BATSRI, R.; GAZIT, S. Outcrossing rate in adjacent 'Maya' and 'Tommy Atkins' mango blocks. **Scientia Horticulturae**, Amstordam, v. 70, p. 25-30. 1997.
- GERBER, S.; CHABRIER, P.; KREMER, A. FAMOZ: a software for parentage analysis using dominant, codominant and uniparentally inherited markers. **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v. 3, n. 3, p. 479-481. 2003.
- KNIGHT JUNIOR, R. J. Important mango cultivars and their descriptors. In: LITZ, R. E. (Ed.). **The mango: botany, production and uses**. Wallingford: CAB International, 1997. p. 545-565.
- VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; LEE, T. van der; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUPIER, M.; ZABEAU. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 23, n. 21, p. 4407-4414. 1995.
- WYZYKOWSKI, J.; ARAÚJO, J. L. P.; ALMEIDA, C. O. de. Mercado e comercialização. In: GENU, P. J. de C.; PINTO, A. C. de Q. (Ed.). **A cultura da mangueira**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. cap. 19, p. 433-444.