

# DESENVOLVIMENTO DE NOVAS LINHAGENS DE MAMOEIRO COM AUXÍLIO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES

**Eder Jorge de Oliveira<sup>1</sup>; Gilmara Alvarenga Fachardo Oliveira<sup>2</sup>; Vania Jesus dos Santos de Oliveira<sup>2</sup>; Ana Cristina Vello Loyola Dantas<sup>2</sup>; Jorge Luiz Loyola Dantas<sup>1</sup> e Juliano Gomes Pádua<sup>3</sup>**

<sup>(1)</sup>Embrapa Mandioca e Fruticultura. Rua Embrapa, s/nº - Cruz das Almas, BA - Caixa Postal 007, CEP 44380-000, E-mail: eder@cnpmf.embrapa.br, loyola@cnpmf.embrapa.br;

<sup>(2)</sup>Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Campus de Cruz das Almas, BA - CEP 44380-000, E-mail: gfachardo@yahoo.com.br, vania79br@yahoo.com.br, anacristinaloyola@yahoo.com.br; <sup>(3)</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Parque Estação Biológica - PqEB - Av. W5 Norte (final) - Brasília, DF - Caixa Postal 02372, CEP 70770-917, E-mail: jgpdua@cenargen.embrapa.br

## INTRODUÇÃO

O mamoeiro apresenta sistema reprodutivo bastante diversificado, podendo haver genótipos dióicos com reprodução por alogamia e genótipos ginóico-andromonóicos com autogamia facultativa. Este último tipo é o que predomina nos cultivos comerciais em função da preferência do mercado consumidor por frutos oriundos de plantas hermafroditas. Portanto, as ações de melhoramento visando o desenvolvimento de novas variedades são realizadas em populações ginóico-andromonóicas.

A autogamia facultativa permite o uso de diferentes métodos de melhoramento, porém como a exploração da heterose tem permitido a obtenção de híbridos com alta performance agrônômica, métodos que permitam o desenvolvimento de linhagens contrastantes de mamoeiro têm sido utilizados.

A partir da geração das populações segregantes, a obtenção de linhagens de mamoeiro pode levar mais de 12 anos, considerando ciclo de dois anos e no mínimo seis gerações de autofecundação para se chegar a um nível adequado de homozigose. Contudo, o uso da seleção assistida por marcadores codominantes, como os microssatélites, tem contribuído para reduzir drasticamente este tempo (OLIVEIRA *et al.*, 2010). Assim, este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar o aumento da endogamia em linhagens de mamoeiro, com auxílio da seleção assistida por marcadores microssatélites.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 36 plantas S<sub>3</sub> ou F<sub>4</sub> de mamoeiro (Tabela 1), oriundas da autofecundação de plantas com níveis intermediários de endogamia, estimados com base em marcadores microssatélites (OLIVEIRA *et al.*, 2010). Três são oriundas do cruzamento Calimosa x Mamão e outras 33 oriundas da autofecundação de plantas hermafroditas de acessos de

germoplasma. As linhagens L28-1 e L28-6, previamente identificadas como homozigóticas foi utilizada como testemunhas. Os híbridos Calimosa e Tainung, bem como uma variedade local (JTA) e uma cultivar (Sunrise) também foram analisados para estimar o seu nível de endogamia (Tabela 1). O DNA foi extraído de folhas com base no protocolo descrito por Doyle & Doyle (1990).

A genotipagem das linhagens foi realizada com base em um conjunto de 27 locos de microssatélites desenvolvidos por Oliveira *et al.* (2008), e previamente selecionados por apresentarem alto polimorfismo. As condições de reação, amplificação e separação dos fragmentos por eletroforese são descritas por Oliveira *et al.* (2010).

Os fragmentos foram genotipados com base no seu tamanho, em pares de bases (pb), em comparação com padrão de peso molecular *ladder* 50-pb (New England Biolabs). A estimativa de endogamia dos genótipos de mamoeiro foram obtidas para todos os locos de microssatélites utilizando o programa PowerMarker v.3.25 (LIU & MUSE, 2005) com uso do algoritmo EM (expectation maximization) do  $F_{IS}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O coeficiente de endogamia das linhagens ( $f$ ) variou de 0,80 a 1,00. Onze linhagens (L06-4, L07-6, L08-3, L14-2, L15-3, L36-5, L37-1, L37-6, L42-3, L45-5 e L49-6), variedade local (JTA), cultivar (Sunrise) e as testemunhas (L28-1 e L28-6) apresentaram endogamia completa com base nos 27 locos de microssatélites avaliados. Os híbridos Tainung e Calimosa apresentaram estimativas de 0,80 e 0,87, respectivamente. Outras seis linhagens apresentaram níveis de endogamia abaixo de 0,90 (L01-5, L32-1, L05-2, L05-6, L11-5 e L45-3) (Tabela 1).

O coeficiente de endogamia representa a medida de desvio da frequência genotípica em relação à frequência panmítica, expressas em termos de deficiência ou excesso de heterozigotos. Valores negativos indicam excesso de heterozigotos na população e valores positivos e significativamente diferentes de zero, indicam algum nível de endogamia da população, relacionado ao processo de autofecundação ou cruzamentos entre indivíduos mais aparentados do que a média da população.

Os marcadores microssatélites revelaram alto nível de endogamia em todas as linhagens e mesmo nos híbridos comerciais (Tabela 1). Estas observações são corroboradas pelo fato de que os genótipos avaliados e selecionados são predominantemente hermafroditas, e que o cruzamento entre acessos aparentados restringe a variabilidade genética do mamoeiro e conduz a um alto nível de ancestralidade.

O nível de endogamia das plantas resultantes da autofecundação das plantas  $S_2$  e  $F_3$ , permaneceu o mesmo para algumas linhagens, porém como esperado, aumentou em sua maioria. As linhagens L40-3, L03-5, L17-8, L01-2, L02-5, L20-3, L39-4, L39-6, L06-4, L07-6, L08-3, L15-3, L36-5, L37-1, L37-6, L42-3, L45-5 e L49-6, destacaram-se por apresentarem os maiores aumentos nos índices de endogamia (Tabela 1 e Figura 1). Estas linhagens constituem-se em potenciais parentais para cruzamentos visando a obtenção de híbridos. Além disso, também podem ser utilizadas como variedades em plantios comerciais, após sua avaliação em ensaios de competição com variedades comerciais, de forma a identificar sua estabilidade e estabilidade de produção em outros ambientes.

**Tabela 1.** Relação de linhagens de mamoeiro, com sua genealogia, origem e nível de endogamia ( $f$ ) avaliadas por marcadores microssatélites.

Linhagem	Genealogia	Tipo	Origem	$f$ geração atual	$f$ geração anterior
L01-2	$F_4$ (Cal x Co)	Formosa	Brasil	0,96	0,84
L01-5	$F_4$ (Cal x Co)	Formosa	Brasil	0,85	
L02-5	$F_4$ (Cal x Co)	Formosa	Brasil	0,96	
L03-5	$S_3$ -CMF002	Formosa	Costa Rica	0,92	0,80
L04-2	$S_3$ -CMF003	Formosa	Taiwan/China	0,96	0,96
L04-4	$S_3$ -CMF003	Formosa	Taiwan/China	0,96	
L05-2	$S_3$ -CMF004	Formosa	USA	0,88	0,88
L05-6	$S_3$ -CMF004	Formosa	USA	0,88	
L06-4	$S_3$ -CMF005	Solo	Brasil	1,00	0,88
L07-6	$S_3$ -CMF005	Solo	Brasil	1,00	0,84
L08-3	$S_3$ -CMF006	Solo	USA	1,00	0,84
L09-1	$S_3$ -CMF010	Formosa	Malásia	0,91	0,88
L11-5	$S_3$ -CMF012	Solo	Malásia	0,88	0,88
L12-6	$S_3$ -CMF014	Solo	Malásia	0,92	0,92
L14-2	$S_3$ -CMF018-1	Formosa	Taiwan/China	1,00	0,96
L14-3	$S_3$ -CMF018-1	Formosa	Taiwan/China	0,96	
L15-3	$S_3$ -CMF018-2	Formosa	Taiwan/China	1,00	0,92
L17-8	$S_3$ -CMF022	Formosa	Malásia	0,92	0,84
L20-3	$S_3$ -CMF033	Formosa	Brasil	0,96	0,84
L23-8	$S_3$ -CMF041-1	Formosa	Brasil	0,96	0,96
L24-4	$S_3$ -CMF041-2	Formosa	Brasil	0,96	0,96
L24-7	$S_3$ -CMF041-2	Formosa	Brasil	0,96	
L25-1	$S_3$ -CMF050	Formosa	Brasil	0,96	0,95
L27-6	$S_3$ -CMF060	Formosa	USA	0,91	0,91
L28-1	$S_3$ -CMF065	Formosa	Brasil	1,00	1,00
L28-6	$S_3$ -CMF065	Formosa	Brasil	1,00	
L31-1	$S_3$ -CMF070-1	Formosa	Brasil	0,92	0,88
L32-1	$S_3$ -CMF070-2	Formosa	Brasil	0,87	0,84
L36-5	$S_3$ -CMF094	Solo	Brasil	1,00	0,88
L37-1	$S_3$ -CMF106	Solo	Brasil	1,00	0,79
L37-6	$S_3$ -CMF106	Solo	Brasil	1,00	
L39-4	$S_3$ -CMF126	Solo	Brasil	0,96	0,83
L39-6	$S_3$ -CMF126	Solo	Brasil	0,96	
L40-3	$S_3$ -CMF129	Formosa	Brasil	0,91	0,86
L42-3	$S_3$ -CMF132	Formosa	USA	1,00	0,88

L45-3	S <sub>3</sub> -CMF146	Formosa	Brasil	0,88	0,88
L45-5	S <sub>3</sub> -CMF146	Formosa	Brasil	1,00	
L49-6	S <sub>3</sub> -CMF230	Solo	Brasil	1,00	0,92
Calimosa	Híbrido	Formosa	Brasil	0,87	-
JTA	Variedade local	Solo	Brasil	1,00	-
Sunrise	Cultivar	Solo	Brasil	1,00	-
Tainung	Híbrido	Formosa	Taiwan/China	0,80	-

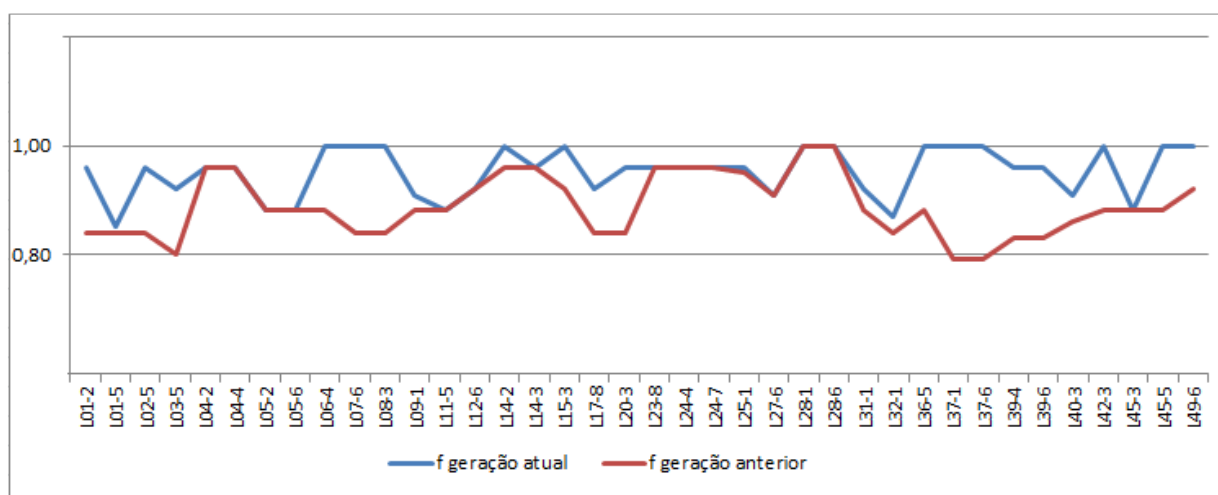


Figura 1. Variação do nível de endogamia entre plantas S<sub>3</sub> ou F<sub>4</sub> após autofecundação.

## CONCLUSÃO

O uso da seleção assistida por marcadores microsatélites possibilita a identificação de linhagens de mamoeiro com maior homoziguidade, contribuindo assim para reduzir o tempo necessário para obtenção de linhagens.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e a FAPESB (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia) pela concessão do auxílio financeiro e concessão das bolsas de estudo.

## REFERÊNCIAS

- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12, p.13-15, 1990.
- LIU, K.; MUSE, S.V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. **Bioinformatics Applications Note**, v.21, p.2128–2129, 2005.
- OLIVEIRA, E.J.; DANTAS, J.L.L.; CASTELLEN, M.S.; MACHADO, M.D. Identificação de microsatélites para o mamoeiro por meio da exploração do banco de dados de DNA. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p.625-628, 2008.

OLIVEIRA, E.J.; SILVA, A.S.; CARVALHO, F.M.; SANTOS, L.F.; COSTA, J.L.; AMORIM, V.B.O.; DANTAS, J.L.L. Polymorphic microsatellite marker set for *Carica papaya* L. and its use in molecular-assisted selection. **Euphytica**, v.173, p.279–287, 2010.