

Identificação de híbridos do cruzamento de cultivares de mangueira 'Haden' x 'Tommy Atkins' via marcador de DNA microssatélite

Identification of hybrids from cross of Haden x Tommy Atkins mango cultivars based on microsatellite markers

Marciene Amorim Rodrigues¹, Carlos Antonio F. Santos², Francisco Pinheiro Lima Neto²

Resumo

O objetivo deste trabalho foi identificar indivíduos híbridos, resultantes de cruzamento 'Haden' x 'Tommy Atkins', com base em marcadores microssatélites (SSRs), de forma a orientar trabalhos genéticos com a espécie. Realizou-se *screening* inicial dos parentais 'Haden' e 'Tommy Atkins' utilizando 30 *primers* SSRs de *Mangifera indica*. *Primers* que apresentavam apenas um alelo em 'T. Atkins' foram selecionados para genotipagem de 77 progênies do cruzamento 'Haden' x 'T. Atkins'. Foram consideradas como progênies híbridas aquelas que possuíam o alelo proveniente da 'T. Atkins'. Os *primers* mMiCIR001, mMiCIR005, mMiCIR018, mMiCIR020, mMiCIR021, mMiCIR030 e mMiCIR0365 apresentavam um alelo apenas na 'T. Atkins', sendo ausente na 'Haden'. Em cinco deles foi identificada a configuração de heterozigose nos parentais, sendo que um alelo era comum entre 'T. Atkins' e 'Haden'.

¹Estudante de Ciências Biológicas da UPE, Estagiário da Embrapa Semi-Árido, C. P. 23, CEP 56302-970; Petrolina-PE. ²Pesquisador da Embrapa Semi-Árido; casantos@cpatsa.embrapa.br

A configuração de retrocruzamento, ou seja, homozigose na 'Haden' e heterozigose na 'T. Atkins', foi observada em apenas dois *primers*. Foram considerados híbridos 56 indivíduos genotipados com os SSRs mMiCIR005 e mMiCIR030. Foram identificados ainda quatro indivíduos homozigotos e 17 indivíduos que podem tanto ser resultado de autofecundação ou como de polinização cruzada, com base nos dois *primers* de SSRs analisados. Palavras-chave: *Mangifera indica*, SSRs, cruzamento.

Introdução

A base comercial dos empreendimentos agrícolas em mangicultura no Brasil está alicerçada em poucas cultivares, todas de origem americana. O Vale do São Francisco é responsável por mais de 90% das exportações nacionais de mangas, sendo que 95% da área cultivada está concentrada na variedade 'Tommy Atkins' (Anuário Brasileiro da Fruticultura, 2006).

Essa cultivar apresenta vários aspectos agronômicos positivos, como boa coloração, boa resistência ao transporte e relativa resistência a doenças. Entretanto a incidência do colapso interno da polpa, sua elevada suscetibilidade à malformação floral e sabor inferior quando comparado com outros genótipos, tem sido bastante contestadas, pois, o predomínio de uma única cultivar, deixa a cultura com um elevado grau de vulnerabilidade, principalmente ao aparecimento de pragas e doenças. Nesse cenário, a introdução de novas cultivares torna-se imprescindível para a mudança desse panorama (Rodrigues et al. 2007).

Dentre as diversas aplicações de marcadores de DNA no melhoramento genético de plantas, destaca-se a identificação de origem parental e seleção de cruzamentos. O marcador molecular SSR (*Single Sequence Repeat*) ou polimorfismo de microssatélite tem sido o mais utilizado para esse fim por possuir maior conteúdo de informação polimórfica, devido à expressão co-dominante e ao multialelismo (Ferreira & Grattapaglia, 1996).

Este trabalho visou identificar indivíduos resultantes de autofecundação da cultivar 'Haden' e/ou de fecundação cruzada entre esta e a cultivar 'Tommy Atkins' através do uso de marcador SSR.

Material e Métodos

Para a identificação dos indivíduos, foi feito *screening* inicial dos parentais 'Haden' e 'Tommy Atkins' utilizando 30 *primers* microssatélite de *Mangifera indica* publicados por Duval et al. (2005).

As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 20 μ L, contendo 50 ng de DNA genômico, 1x de Tampão para *Taq* DNA Polimerase, 2,0 mM $MgCl_2$, 0,2 mM de dNTP's, 0,2 μ M de cada *primer*, 0,15 Unidades da enzima *Taq* DNA Polimerase. O programa consistiu de um ciclo de desnaturação a 94°C por 4 min, seguido de 30 ciclos a 94°C por 45 s, 51°C por 60 s e 72°C por 60 s e uma etapa de extensão final a 72°C, por 8 min. Após a amplificação os fragmentos foram visualizados por meio de Eletroforese em gel de Poliacrilamida corado com nitrato de prata, conforme descrito por Creste et al. (2001).

Primers que apresentavam um alelo apenas na 'T. Atkins' foram selecionados para genotipagem de 77 progênies do provável cruzamento entre 'Haden' x 'Tommy'. Foram consideradas como progênies híbridas aquelas que possuíam o alelo proveniente da 'Tommy Atkins' que não era comum na 'Haden' (presença do alelo na 'T. Atkins' e ausência na 'Haden').

Resultados e Discussão

Foram identificados sete entre os 30 *primers*, quais sejam mMiCIR001, mMiCIR005, mMiCIR018, mMiCIR020, mMiCIR021, mMiCIR030 e mMiCIR0365, que apresentaram um alelo apenas na 'T. Atkins', sendo ausente na 'Haden' (Fig. 1). Em cinco dos sete primers foi identificada a configuração de heterozigose nos parentais, sendo que um alelo era comum entre 'T. Atkins' e 'Haden'. Essa configuração era esperada, pois o genitor feminino da 'Tommy Atkins' foi a 'Haden' (Knight Junior, 1997). A configuração de retrocruzamento, ou seja, homozigose na 'Haden' e heterozigose na 'T. Atkins', foi observada em apenas dois *primers*. A alta heterozigosidade observada em geral nas fruteiras tem sido utilizada por melhoristas para o desenvolvimento de esquemas de cruzamentos, conhecidos como *double pseudo testcross*, visando estudos genéticos.

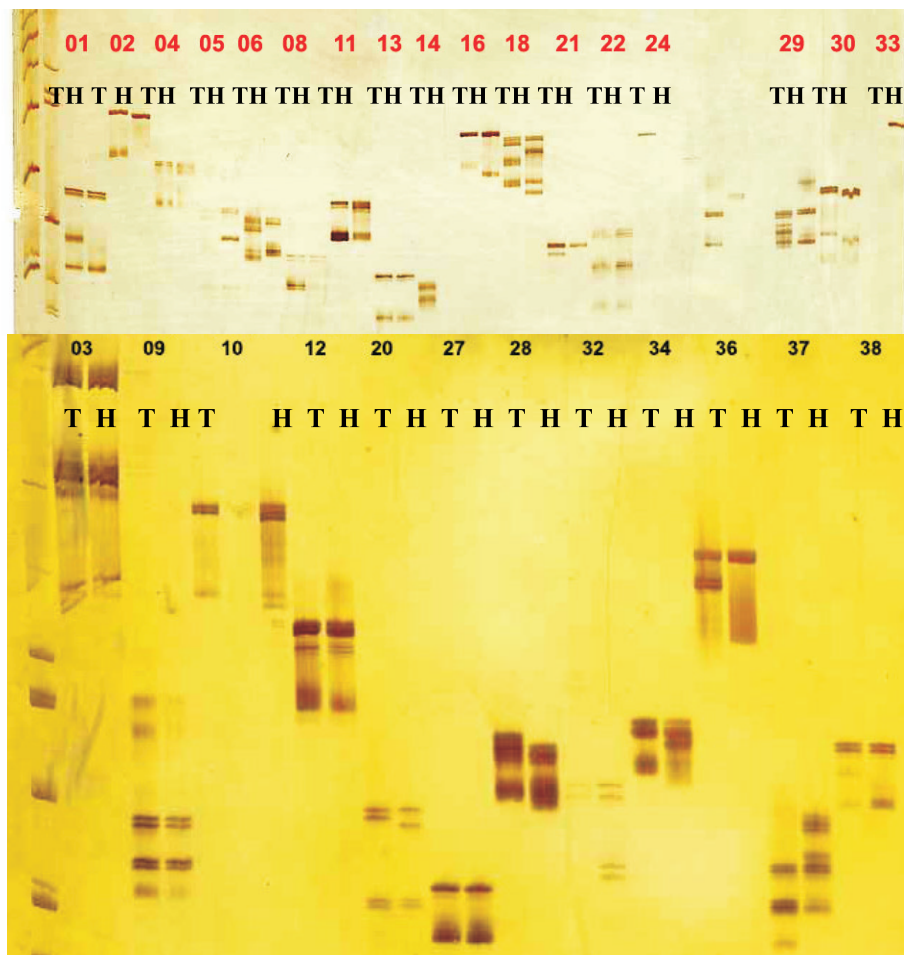


Fig. 1. Géis de poliacrilamida (6%) com *primers* de mangaieira avaliados em 'Tommy Atkins' (T) e 'Haden' (H).

A genotipagem de 76 progênies com os SSRs mMiCIR005 e mMiCIR030 possibilitou a identificação de indivíduos homocigotos e heterocigotos na população (Fig. 2). Foram considerados híbridos 56 indivíduos genotipados com os SSRs mMiCIR005 e mMiCIR030. Foram identificados ainda quatro indivíduos homocigotos e 17 indivíduos que podem tanto ser resultado de autofecundação ou como de polinização cruzada, com base nos dois *primers* de SSRs analisados. Um maior número de *primers* devem ser testados para

identificar os heterozigotos entre os 17 indivíduos que permaneceram como dúvida na análise com os dois *primers*.

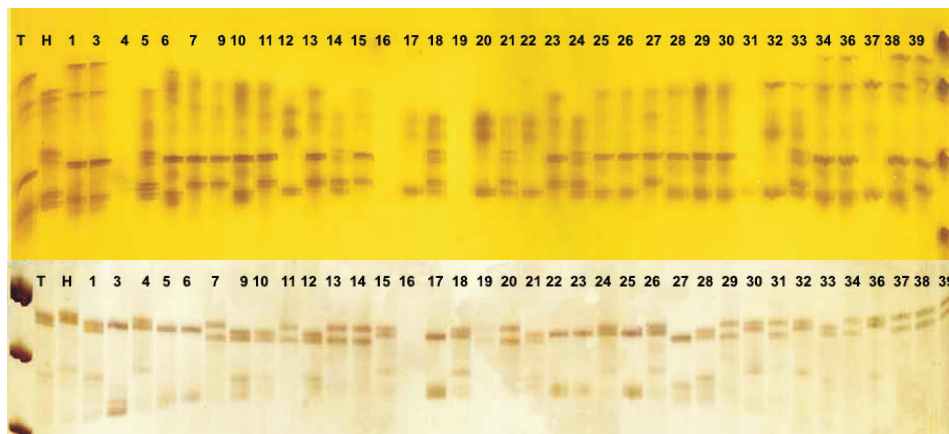


Fig. 2. Géis de poliacrilamida (6%) com *primers* SSRs mMiCIR005 e mMiCIR030 de mangueira avaliados em progênes 'Tommy Atkins' e 'Haden'.

Rodrigues et al. (2007) identificaram, nesta mesma população de mangueira, 108 entre 124 indivíduos avaliados com as sete bandas de AFLP, que apresentaram pelo menos a presença de duas bandas proveniente da 'T. Atkins', levando a concluir que a taxa de polinização cruzada foi de 87%. Para situações típicas de retrocruzamento, em que um dos parentais apresenta sempre um alelo da mãe, os marcadores dominantes são mais apropriados do que os co-dominantes, pois com os primeiros é possível obter um maior número de bandas que possibilitem a correta identificação dos indivíduos híbridos.

Referências Bibliográficas

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA 2006. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2006. 136 p.

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.

DUVAL, M. F.; BUNEL, J.; SITBON, C.; RISTERUCCI, A. M. Development of microsatellite markers for mango (*Mangifera indica* L.). **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v. 5, p. 824–826, 2005.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. 2. ed. Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1996. 220 p.

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.

RODRIGUES, M. A.; SANTOS, C. A. F.; LIMA, R. S. N.; LIMA NETO, F. P. Identificação de híbridos entre cultivares de manga via marcador de DNA AFLP. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMI-ÁRIDO, 2., 2007, Petrolina. **Anais...** Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2007. (Embrapa Semi-Árido. Documentos 205)