

## UTILIZAÇÃO DO MÉTODO DE RETROCRUZAMENTO NO MELHORAMENTO DO CUPUAÇUZEIRO

**BANDEIRA**, Bruna dos Santos<sup>1</sup>; **ALVES**, Rafael Moysés<sup>2</sup>; **FARIAS**, Daniella Cristina Raiol<sup>3</sup>.

**RESUMO:** O método do retrocruzamento representou, ao longo da história, uma ferramenta importante para incorporação de genes em espécies perenes em processo de melhoramento genético. Este trabalho objetivou colher os primeiros subsídios para iniciar o referido método, através da obtenção de informações básicas sobre a taxa de compatibilidade entre genótipos de cupuaçuzeiro, e, simultaneamente, gerar progênies de irmãos completos com bom potencial para produção de frutos e resistência à vassoura-de-bruxa. Matrizes “híbridas” (16), selecionadas através do programa de melhoramento genético do cupuaçuzeiro desenvolvido pela Embrapa Amazônia Oriental, foram retrocruzadas com cinco clones que têm demonstrado boa produção de frutos e/ou resistência à vassoura-de-bruxa, obedecendo a esquema de dialelo parcial. Não foram realizados os cruzamentos com clones que já eram ancestrais das matrizes, para evitar efeito endogâmico. Os cruzamentos, entre os diferentes materiais, apresentaram, no geral, taxas médias de compatibilidade elevadas. Entretanto, dependendo das características intrínsecas de cada combinação, ocorreram cruzamentos incompatíveis (taxa de 0%) até totalmente compatíveis (taxa de 100%). Houveram clones que apresentaram elevadas taxas de compatibilidade, independente do outro progenitor. Ao mesmo tempo em que outros com tendência de apresentar percentual elevado de combinações incompatíveis. As progênies oriundas desses cruzamentos serão avaliadas em experimentos de campo.

**PALAVRAS-CHAVE:** irmãos completos; compatibilidade; polinização controlada.

## USE OF THE BACKCROSS METHOD IN THE *THEOBROMA GRANDIFLORUM* BREENDING

**ABSTRACT:** The backcross method represented, along the history, an important tool for incorporation of genes in perennial species in process of genetic breeding. This work objectified to pick the first subsidies to begin it referred method, through the obtaining of basic information on the compatibility rate among *Theobroma grandiflorum* genotypes, and, simultaneously, to generate full sibs progenies with good potential for production of fruits and resistance to the broom-of-witch. Hybrid mother tree (16), selected through the program of genetic breeding of the *T. grandiflorum* developed in Belém (Brazil), were backcrossed with five clones that have been demonstrating good

<sup>1</sup>Bolsista do PIBIC/CNPq/EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL. Acadêmico do 7º semestre do curso de Agronomia

<sup>2</sup>Orientador/Pesquisador III Dr. EMBRAPA

<sup>3</sup>Estagiaria EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL. Acadêmica do 5º Semestre do Curso de Agronomia.

IV Seminário de Iniciação Científica da UFRA e X Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA Amazônia Oriental/2006.

production of fruits and resistance to the broom-of-witch, obeying the outline of partial diallelo. The crossings were not accomplished with clones that were already mother tree progenitor, to avoid effect inbreeding. The crossings, among the different materials, presented, in the general, rates high compatibility averages. However, depending on the intrinsic characteristics of each combination, they happened incompatible crossings (it rates of 0%) until totally compatible (it rates of 100%). there were clones that presented high compatibility rates, independent of the other progenitor. At the same time in that others with tendency of presenting percentile elevated of incompatible combinations. The progenies proceeding of those crossings will be appraised in field experiments.

**KEYWORDS:** full sibs, compatibility; pollination controlled

## INTRODUÇÃO

Este plano de trabalho deu continuidade a um seguimento de pesquisa que vem sendo conduzida pela Embrapa Amazônia Oriental, desde a década de 90, dentro do Programa de Melhoramento Genético do Cupuaçuzeiro (Alves et al., 1997; Alves, 1999b). Esse programa foi o responsável pelo lançamento dos primeiros cultivares de cupuaçuzeiro resistentes à vassoura-de-bruxa: Coari, Codajás, Manacapuru e Belém. Essa enfermidade vem se tornando o principal entrave para o desenvolvimento da cultura em toda região amazônica (Alves et al., 1998; Bastos et al., 1999; Cruz et al., 2000; Cruz & Alves, 2001).

O cupuaçuzeiro é uma fruteira perene com grande potencialidade para se tornar uma cultura importante para a região Norte do Brasil. Na década de 70 passou de uma condição essencialmente extrativa para o cultivo racional e hoje ocupa mais de 30.000 ha na região amazônica (Calzavara et al., 1984; Carvalho et al., 1999; Homma et al., 2001; Alves & Figueira, 2002).

O histórico do melhoramento genético de espécies nativas da região amazônica, como cacau e seringueira, revela que, pela coevolução, ao longo de séculos, dos patógenos com as espécies, diferentes raças e patotipos foram surgindo e se estabeleceram endemicamente. Quando plantios comerciais se estabelecem na região em áreas extensas, existe risco acentuado que ocorram epidemias. Isto aconteceu com a seringueira, severamente castigada pelo mal das folhas (*Microcyclus ulei*); com o cacau afetado pela vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa*), e agora o cupuaçuzeiro também com a vassoura-de-bruxa.

Como o cupuaçuzeiro é uma fruteira perene, há possibilidade de surgimento de novas raças ao longo do tempo, isto implica que o produtor deverá possuir material de plantação com ampla base genética, com diferentes fontes de resistência, para que haja sustentabilidade biológica e conseqüentemente econômica.

Métodos alternativos de controle da vassoura-de-bruxa, como poda fitossanitária e aplicação de fungicidas, não têm surtido resultados satisfatórios (Yoneyama et al., 1997). Portanto, o uso de

materiais geneticamente resistente a essa enfermidade, parece ser a alternativa mais segura para a cultura.

As estratégias do programa de melhoramento desenvolvido pela Embrapa Amazônia Oriental, visam desenvolver cultivares resistentes à vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso*), além de boa produtividade de frutos. Estas estratégias são as mais diversas possíveis, iniciando pela seleção massal, com ou sem estratificação, em populações nativas remanescentes, pomares caseiros e plantios comerciais. Avança no sentido da produção de híbridos e populações melhoradas, via seleção recorrente, quando são utilizadas técnicas de seleção entre e dentro de famílias de meios irmãos e irmãos completos. Durante todos os processos de avaliações, matrizes superiores poderão ter o genótipo fixado através de clonagem (Alves, 1999).

Esta pesquisa teve por objetivo avançar no programa de melhoramento genético desenvolvido pela Embrapa Amazônia Oriental, através do emprego da metodologia de retrocruzamento. Inicialmente foi realizada a avaliação final de 21 híbridos de cupuaçuzeiro instalados na base física da Embrapa, em Belém. Com base nessa avaliação foi procedida a seleção tanto entre como dentro das progênies híbridas. Seleccionadas as matrizes, que deveriam apresentar elevada produção de frutos e manter a resistência à vassoura-de-bruxa, estas foram retrocruzadas com clones que também apresentam resistência a essa doença, possivelmente com fontes de genes de resistência diferentes, e/ou boa produção de frutos. As progênies de retrocruzamentos, assim obtidas, serão, posteriormente, avaliadas no viveiro e em condições de campo.

A finalidade dessa metodologia é reunir em um só genótipo, características agronômicas superiores, dispersas nos genitores. Como se trata de materiais selecionados, sendo que, quatro clones que serão utilizados como genitores, já foram lançados pela Embrapa Amazônia Oriental, a expectativa é a de que este projeto proporcione a nova geração de cultivares a serem lançados pela Embrapa, visto que, deverão ser obtidas progênies que mantenham resistência à vassoura-de-bruxa e incremento de pelo menos 30% na produção de frutos. Deste modo objetivando produzir progênies de cupuaçuzeiro, pelo método de retrocruzamento, visando desenvolver materiais com maior potencial de produção de frutos e resistência à vassoura-de-bruxa. Paralelamente avaliar a taxa de compatibilidade entre os genótipos envolvidos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

A primeira fase da pesquisa consistiu em avaliar 21 híbridos de cupuaçuzeiro que foram instalados na Base Física da Embrapa, em 1998, no delineamento de Blocos casualizados. Foram utilizados dados do desenvolvimento vegetativo das plantas durante quatro anos de campo (2000 a 2003); produção de frutos de quatro safras (2001 a 2005) e avaliação de resistência à vassoura-de-bruxa (2002 a 2004).

Após análise genética no programa Selegen, foram selecionadas oito progênies híbridas e, dentro de cada progênie, de uma a três matrizes que mais se destacaram. Dessas progênies pelo menos três apresentam potencialidade para serem indicadas para plantio, na forma de material sexuado (sementes) e as matrizes destaques poderão ser propagadas vegetativamente e recomendadas como clones (Tabela 1). Estas matrizes serviram como paternais dos retrocruzamentos aqui efetuados.

Foram realizadas polinizações controladas entre 16 matrizes e 5 (cinco) clones, que têm demonstrado tolerância à vassoura-de-bruxa e/ou alta produtividade de frutos: 174, 186, 215, 1074, Sekó. O retrocruzamento onde o progenitor recorrente (clone - mãe) era um dos ancestrais da matriz (clone - pai), não foi realizado, pois isto conduziria a uma forte endogamia.

Foi empregada a metodologia proposta por Neves et al. (1993), para realização de polinização controlada, sendo realizado um dialelo parcial (Tabela 1). As polinizações foram realizadas no período da tarde, imediatamente antes da antese, na fase de botão estriado, desta forma prevenindo a contaminação de pólen estranho. Nesta fase o botão já apresenta estigma receptivo e grãos de pólen viáveis. Esta metodologia já vem sendo empregada com sucesso pela equipe de melhoramento da Embrapa Amazônia Oriental.

O procedimento dos retrocruzamentos obedeceu ao seguinte esquema de campo:

Tabela 1: Esquema dos cruzamentos entre as matrizes selecionadas e os clones, Belém, 2006

| Matriz (Pai) | Clone (Mãe) |     |     |      |      |
|--------------|-------------|-----|-----|------|------|
|              | 174         | 186 | 215 | 1074 | Sekó |
| 1            | Ψ           | Ψ   | X   | X    | X    |
| 2            | Ψ           | Ψ   | X   | X    | X    |
| 3            | X           | Ψ   | X   | X    | X    |
| 4            | X           | Ψ   | X   | X    | X    |
| 5            | X           | Ψ   | X   | X    | X    |
| 6            | X           | Ψ   | Ψ   | X    | X    |
| 7            | X           | X   | Ψ   | X    | X    |
| 8            | Ψ           | X   | X   | X    | X    |
| 9            | Ψ           | X   | X   | X    | X    |
| 10           | X           | Ψ   | X   | X    | X    |
| 11           | X           | Ψ   | X   | X    | X    |
| 12           | X           | Ψ   | Ψ   | X    | X    |
| 13           | X           | Ψ   | Ψ   | Ψ    | X    |
| 14           | Ψ           | Ψ   | Ψ   | Ψ    | X    |
| 15           | Ψ           | Ψ   | X   | Ψ    | X    |
| 16           | X           | Ψ   | X   | X    | X    |

**Legenda: X = Cruzamento planejado; Ψ = Cruzamento inadequado.**

Em cada cruzamento 10 flores foram polinizadas. Como tinham sido planejados 53 cruzamentos, conseqüentemente deveriam ser realizadas 530 polinizações. Foi estimada a taxa de

compatibilidade entre cada cruzamento, definida pelo número de frutos vingados em relação ao número de polinizações efetuadas. A avaliação do vingamento dos frutos era realizada 15 dias após a polinização.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 encontram-se os resultados da taxa de compatibilidade dos cruzamentos efetuados:

Tabela 2 – Taxa de compatibilidade (%) dos cruzamentos entre matrizes selecionadas e clones de cupuaçuzeiro e estimativas das médias dos cruzamentos e desvio padrão (DP). Belém, 2006.

| MATRIZ<br>(Pai) | Clone (Mãe) |      |      |      |       | Total | MÉDIA | DP   |
|-----------------|-------------|------|------|------|-------|-------|-------|------|
|                 | 174         | 186  | 215  | 1074 | Sekó  |       |       |      |
| 1               | .           | .    | 90   | 90   | X     | 180   | 90.0  | 0,0  |
| 2               | .           | .    | 0    | 90   | 80    | 170   | 56.7  | 49,3 |
| 3               | 70          | .    | 100  | 80   | 100   | 350   | 87.5  | 15,0 |
| 4               | 60          | .    | 70   | 90   | 80    | 300   | 75.0  | 12,9 |
| 5               | 100         | .    | 100  | 90   | 100   | 390   | 97.5  | 5,0  |
| 6               | 30          | .    | .    | 80   | 80    | 190   | 63.3  | 28,9 |
| 7               | 10          | 100  | .    | 70   | 70    | 250   | 62.5  | 37,7 |
| 8               | .           | 100  | X    | 80   | 10    | 190   | 63.3  | 47,3 |
| 9               | .           | 80   | 70   | 70   | 80    | 300   | 75.0  | 5,8  |
| 10              | 80          | .    | 100  | 90   | 80    | 350   | 87.5  | 9,6  |
| 11              | 50          | .    | 100  | 80   | 50    | 280   | 70.0  | 24,5 |
| 12              | 0           | .    | .    | 40   | X     | 40    | 20.0  | 28,3 |
| 13              | 60          | .    | .    | .    | .     | 60    | 60.0  | 0,0  |
| 14              | .           | .    | .    | .    | 80    | 80    | 80.0  | 0,0  |
| 15              | .           | .    | 90   | .    | 100   | 190   | 95.0  | 7,1  |
| 16              | 50          | .    | 70   | 90   | 90    | 300   | 75.0  | 19,1 |
| <b>Total</b>    | 511         | 280  | 790  | 1040 | 1000  |       |       |      |
| <b>Média</b>    | 46.4        | 93.3 | 79.0 | 80.0 | 76.92 |       |       |      |
| <b>DP</b>       | 30,7        | 11,5 | 30,7 | 14,1 | 24,3  |       |       |      |

Obs: X – Cruzamento não realizado, por falta de sincronismo de floração;

. - Cruzamento não realizado para evitar efeito endogâmico.

Dos 53 cruzamentos programados, três não foram realizados, por falta de sincronismo de floração entre os dois parentais. Foram realizadas 500 polinizações com taxa geral média de compatibilidade de 72,4 %.

Observa-se no Gráfico 1 que, em cerca de 80% dos cruzamentos, a taxa de compatibilidade foi superior a 60%. Isso demonstra que, a baixa conversão de flores em frutos no cupuaçuzeiro, regra geral, não decorre de incompatibilidade entre os genótipos. Entretanto, existem exceções como os cruzamentos: matriz 7 x clone 174 ou matriz 8 x clone Sekó, cuja taxa de compatibilidade

foi muita baixa, ou até mesmo foram incompatíveis, como no cruzamento da matriz 2 x clone 215 e da matriz 12 x clone 174.

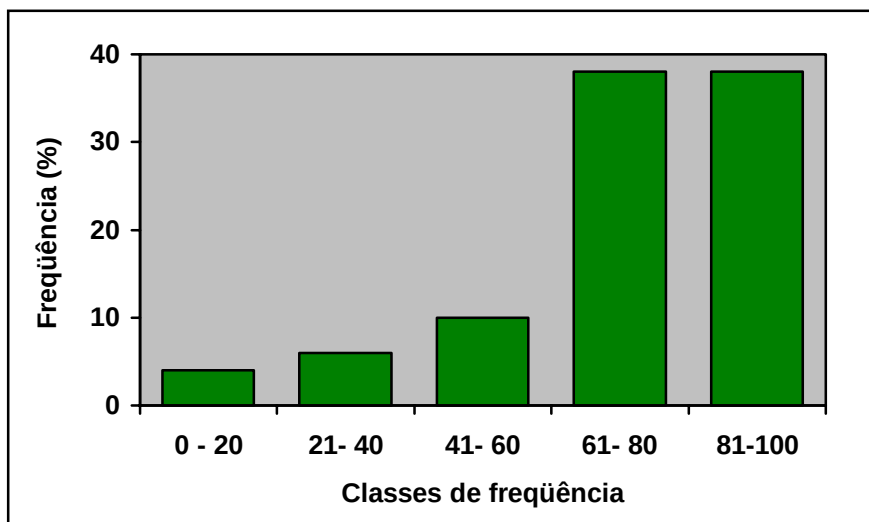


Gráfico 1 – Distribuição das taxas de compatibilidade (%)

Analisando-se o comportamento médio de compatibilidade de cada matriz verifica-se uma variação bastante acentuada (Gráfico 2). Existem matrizes com compatibilidade elevada e uniforme independente dos clones cruzados (matrizes 1, 5 e 15); outras em que, a compatibilidade é relativamente baixa, também independentemente do clone cruzado (matriz 12), e as demais que, apesar das taxas, no geral, ainda serem elevadas, apresentam um ou mais cruzamentos com taxas reduzidas (Tabela 2).

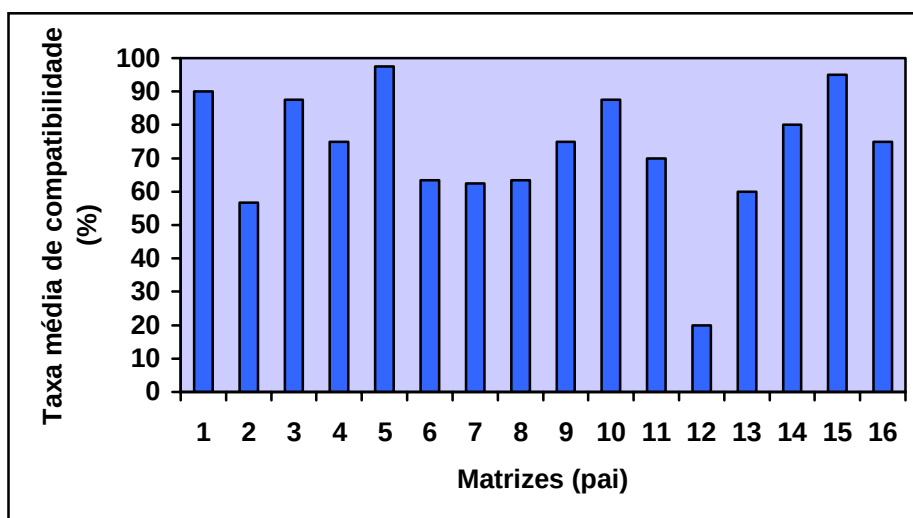


Gráfico 2 – Taxa média de compatibilidade (%) das matrizes utilizadas.

Fazendo-se uma análise das matrizes utilizadas como parental masculino (Gráfico 2), é possível verificar que algumas matrizes apresentaram taxas médias de compatibilidade próximas de 100%. Outras, a taxa média foi relativamente baixa. Essas informações deverão ser levadas em consideração quando da seleção final das matrizes para serem lançadas como novos cultivares. Baixa capacidade de compatibilidade é uma característica negativa, pois, é um indicativo de que o material apresenta dificuldade na formação de frutos e, portanto, com potencial de produção mais reduzido.

Dentre essas matrizes analisadas cabe destacar a matriz 5, a qual apresentou três dos seus quatro cruzamentos com resultado de 100% e apenas um com 90%, obtendo uma média de 97,5% e desvio padrão de 5,0 % (Tabela 2). Uniformidade de comportamento e taxas elevadas de compatibilidade são, dentre outras, características importantes para seleção de uma cultivar.

Analisando-se os clones, utilizados aqui como parental feminino (Gráfico 3), verifica-se que o clone 186 como a melhor performance, 93,3%, seguido pelos clones 215, 1074 e Sekó. O clone 174 apresentou as menores taxas de compatibilidade, fato que confirma resultados anteriores obtidos por Alves (2006).

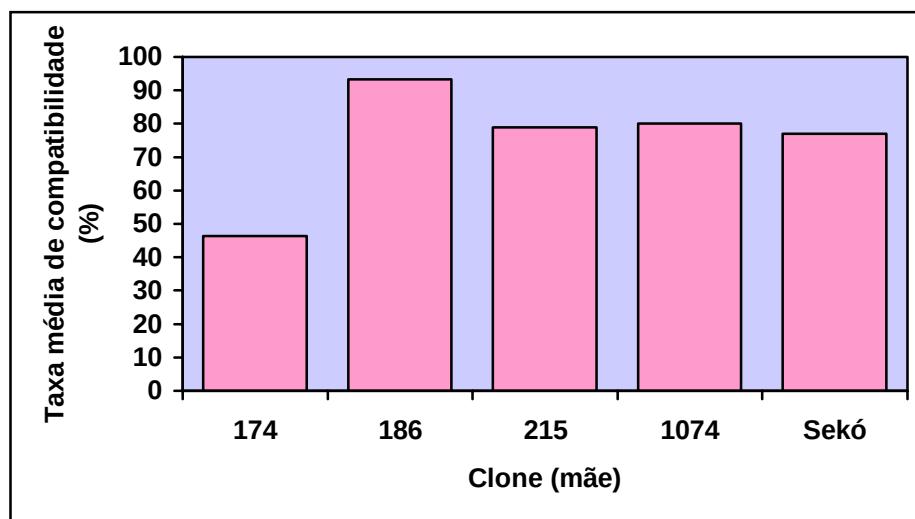


Gráfico 3 - Taxa média de compatibilidade (%) dos clones utilizados.

## CONCLUSÕES:

- Existe variabilidade na espécie cupuaçuzeiro para o caráter compatibilidade;
- No cupuaçuzeiro as taxas de compatibilidade entre os genótipos normalmente são elevadas, superiores a 60%;
- Baixas taxas de compatibilidade acontecem em cruzamentos específicos, ou quando um dos parentais já apresenta, geneticamente, deficiência nessa característica.

## 6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ALVES, R.M.; CORRÊA, J.R.V.; RODRIGO, M. Melhoramento genético do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*) no Estado do Pará. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PIMENTA-DO-REINO E CUPUAÇU, 1., Belém, 1996. **Anais**. Belém: EMBRAPA, CPATU/JICA, 1997. p.127-146. (Documentos, 88)
- ALVES, R.M.; CORRÊA, J.R.V.; GOMES, M.R.O. Avaliação preliminar de matrizes de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*) em áreas de produtores de Tomé-Açu, Pará. In: ENCONTRO DE GENÉTICA DO NORDESTE, 13., Feira de Santana, 1998. **Resumos**. Feira de Santana: Sociedade Brasileira de Genética, Seção Nordeste, 1998a. p.359.
- ALVES, R.M.; STEIN, R.L.B.; ARAÚJO, D.G. de; PIMENTEL, L. Avaliação de clones de cupuaçuzeiro quanto à resistência a vassoura-de-bruxa. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.20, n.3, p.297-306, 1998b.
- ALVES, R.M. Banco ativo de fruteiras nativas da região norte. In: WORKSHOP PARA CURADORES DE BANCO DE GERMOPLASMA DE ESPÉCIES FRUTÍFERAS, 1., Brasília, 1997. **Anais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999a. p.135-137.
- ALVES, R.M. Cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Willd. ex. Spreng) Schum). In: EMBRAPA, Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental. **Programa de melhoramento genético e de adaptação de espécies vegetais para a Amazônia Oriental**. Belém, 1999b. cap.1, p.37-48 (Documentos, 16)
- ALVES, R.M.; FIGUEIRA, A.V.O.; CRUZ, E.D. Estudo da variabilidade genética entre clones de cupuaçuzeiro, *Theobroma grandiflorum* (Willd ex Spreng) Schum, através de marcadores microssatélites. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA E CARIBE, 3., Londrina, 2001. **Anais**. Londrina: IAPAR/Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. p.206-208.
- ALVES, R.M.; FIGUEIRA, A. Cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) genetic resources and breeding in the Brazilian Amazon. **Ingenic Newsletter**, v.7, p.25-32, 2002.
- ALVES, R.M. Compatibilidade entre genótipos de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum). (No prelo)
- ARAÚJO, D.G.; CARVALHO, S.P.; ALVES, R.M. Divergência genética entre clones de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Willd ex Spreng Schum). **Ciência e Agrotecnologia**, v.26, n.1, p.13-21, 2002
- BASTOS, C.N.; BENCHIMOL, R.L.; ALVES, R.M. **Utilização da seiva para avaliação da resistência de clones de cupuaçuzeiro à vassoura-de-bruxa**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 1999. 14p. (Boletim de Pesquisa, 4)
- CALZAVARA, B.B.G.; MULLER, C.H.; KAHWAGE, O.N.C. **Fruticultura tropical: o cupuaçuzeiro - cultivo, beneficiamento e utilização do fruto**. Belém: EMBRAPA, CPATU, 1984. 101p. (Documentos, 32)
- CARVALHO, J.E.U.; MÜLLER, C.H.; BENCHIMOL, R.L.; KATO, A.K.; ALVES, R.M. **COPOASU [*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum.]**: cultivo y utilización: manual técnico. Caracas: FAO, Tratado de Cooperacion Amazônica, 1999. 152p.
- CRUZ, E.D.; ALVES, R.M.; BENCHIMOL, R.L. **Avaliação de clones de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Willd ex Spreng) Schumm) quanto a tolerância à vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer)**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000. 4p. (Comunicado Técnico, 28)
- CRUZ, E.D.; ALVES, R.M. Avaliação de clones de cupuaçuzeiro, *Theobroma grandiflorum* (Willd ex Spreng) Schum, na Amazônia Oriental. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA E CARIBE, 3., Londrina. 2001. **Anais**. Londrina: IAPAR/Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. p.281-283.
- HOMMA, A.K.O.; CARVALHO, R.A.; MENEZES, A.J.E.A. Extrativismo e plantio racional de cupuaçuzeiros no Sudeste Paraense: a transição inevitável. (Compact disc). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, 39., Recife, 2001. **Anais**. Brasília: SOBER, 2001.
- YONEYAMA, S.; NUNES, A.M.L.; DUARTE, M.L.R.; SHIMIZU, O.; ENDO, T.; ALBUQUERQUE, F.C. Controle químico da vassoura-de-bruxa em cupuaçuzeiro. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PIMENTA-DO-REINO E CUPUAÇU, 1., Belém, 1996. **Anais** Belém: EMBRAPA, CPATU/JICA, 1997. p.161-172. (Documentos, 89)