

ANÁLISE DE PARENTESCO E ESTIMATIVA DE FLUXO GÊNICO EM MAMOEIRO POR MEIO DE MARCADORES SSR

Vanusia Batista de Oliveira Amorim¹, Eder Jorge de Oliveira², Jorge Luiz Loyola Dantas²

¹Bolsista PRODOC/DCR - FAPESB/CNPq / Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, BA, CEP 44380-000, e-mail: vanusia@cnmpf.embrapa.br; ²Pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, BA, CEP 44380-000, e-mail: eder@cnmpf.embrapa.br; loyola@cnmpf.embrapa.br

INTRODUÇÃO

O mamoeiro é uma espécie que apresenta plantas femininas, masculinas e hermafroditas, sendo que nos plantios comerciais a preferência é por variedades ou híbridos hermafroditas. A quantidade de pólen produzida por plantas hermafroditas é bem menor que a produzida e dispersada por plantas masculinas e por esta razão a polinização cruzada natural em plantas hermafroditas ocorre em pequena escala, alcançando até 99% de autopolinização (Kee, 1970). De acordo com Badillo, (1971), a fecundação das flores de mamoeiro é feita pelo pólen disperso tanto por insetos quanto pelo vento, chegando a distâncias inferiores a 1 km.

Nos estudos de fluxo gênico são consideradas duas abordagens: a ecológica e a genética, podendo esta última ser direta e indireta. Dentre a abordagem genética indireta, os marcadores microssatélites (SSR) têm proporcionado resultados mais seguros nas análises de parentesco, de forma a auxiliar os cálculos de estimativas do fluxo gênico e curvas de dispersão de pólen no ambiente. Este trabalho teve como objetivo investigar por meio de marcadores SSR a taxa do fluxo gênico e a distância máxima alcançada pelo pólen em uma área de mamoeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em uma área de 1,5 km², localizado no distrito de São José do Itaporã, município de Muritiba-BA (12°6'11'112" S, 39°16'8'336" O e 212m de altitude). Foram mapeadas via GPS duas plantas fêmeas de mamoeiro assim como, 30 possíveis pais (plantas masculinas e hermafroditas) distribuídos em torno das fêmeas. Para todas estas plantas foram coletadas amostras de folhas, além de frutos das duas genitoras. Em seguida, foram obtidas progênies destas genitoras, cujas folhas foram colhidas e extraído DNA genômico (protocolo de

Doyle & Doyle, 1990). Foram testados 15 locos de microssatélites selecionados, a priori, por apresentar alto conteúdo informativo de polimorfismo (PIC) para os testes de exclusão de paternidade em mamoeiro. As condições de reação e amplificação foram descritas por Oliveira et al. (2010). Os produtos resultantes das reações foram separados em gel desnaturante de poli-acrilamida 6% e visualizados por coloração com prata (Creste et al., 2001). A interpretação dos fragmentos amplificados foi realizada visualmente por meio de comparação com marcador de peso molecular padrão (ladder 50 pb). O aplicativo Identity 1.0 (Wagner & Sefc, 1999) foi utilizado para os cálculos de probabilidade de identidade genética (I) e exclusão de paternidade (PE) para cada loco, separado e em combinação. Com base neste último resultado e, levando em consideração o georreferenciamento das plantas progenitoras existentes na área, foi calculada a distância máxima alcançada pelo pólen naquela área experimental.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 60 progênies de meio-irmãos obtidas da genitora 4 foi observado que apenas três pais (003, 006 e 055, todos do sexo masculino) contribuíram para a paternidade das progênies. A razão de máxima verossimilhança acumulada dos alelos observados destes três pais nesta progênie foi de $4,83 \times 10^{-3}$, $3,25 \times 10^{-3}$ e $3,56 \times 10^{-3}$, respectivamente, com intervalo de confiança acima de 95%. Por outro lado, a análise das progênies da genitora 8 possibilitou a identificação de apenas uma das plantas como parental (001/Masculina), com razão de verossimilhança dos alelos do pai 001/M de $8,22 \times 10^{-3}$.

Ainda com base nas frequências alélicas, foi encontrada uma probabilidade combinada de identidade genética (PI), ou seja, de indivíduos não relacionados apresentarem o mesmo genótipo de $5,35 \times 10^{-7}$ e $2,23 \times 10^{-7}$, para as progênies das mães 4 e 8, respectivamente. A probabilidade de exclusão de paternidade, quando todos os locos foram combinados (PCE), foi de 99,53% e 99,70%, para as progênies das mães 4 e 8, respectivamente, evidenciando um ótimo poder de detecção de paternidade múltipla destes locos para o mamoeiro. Estes dados confirmam a contribuição genealógica direta destes pais na formação das progênies de meios-irmãos das mães 4 e 8 e ao mesmo tempo, demonstram o alto poder de exclusão dos demais parentais nas análises obtidas.

Como este trabalho demonstrou um baixo percentual de parentesco nas progênies, dentro da área, ou seja, apenas 0,05% e 0,083% de parentesco observado dentre as progênies de meios-irmãos da mãe 4 e 8, respectivamente, algumas hipóteses foram propostas para justificar este dado: (1): as progênies que não tiveram os parentais determinados, dentro da população,

provavelmente podem ter sido provenientes do pólen de plantas não coletadas na população, devido ao arranquio pelos produtores locais, uma vez que plantas masculinas raramente produzem frutos; (2): possivelmente algumas plantas não foram amostradas, por estarem fora do limite de coleta de 1,5 km²; (3): reduzido número de alelos observados por loco de SSR, o que é comum na cultura do mamoeiro. De acordo com Curi & Lopes, (2002), análises de paternidade não dependem apenas do número de locos SSR, mas principalmente, do nível de polimorfismo que estes marcadores apresentam, sendo este nível determinado pelo número de alelos e distribuição da frequência destes alelos na população.

Com base na posição espacial das plantas na população, considerando seu georreferenciamento, foi constatado que nas progênes de meios-irmãos da mãe 4, que tiveram os pais determinados dentro da população, a distância de dispersão do pólen foi de 263m, 280m, e 581m para os pais 006/M, 003/M e 55/M, respectivamente. No caso das progênes de meios-irmãos da mãe 8, a distância observada foi de 42m (Figura 1a,b).

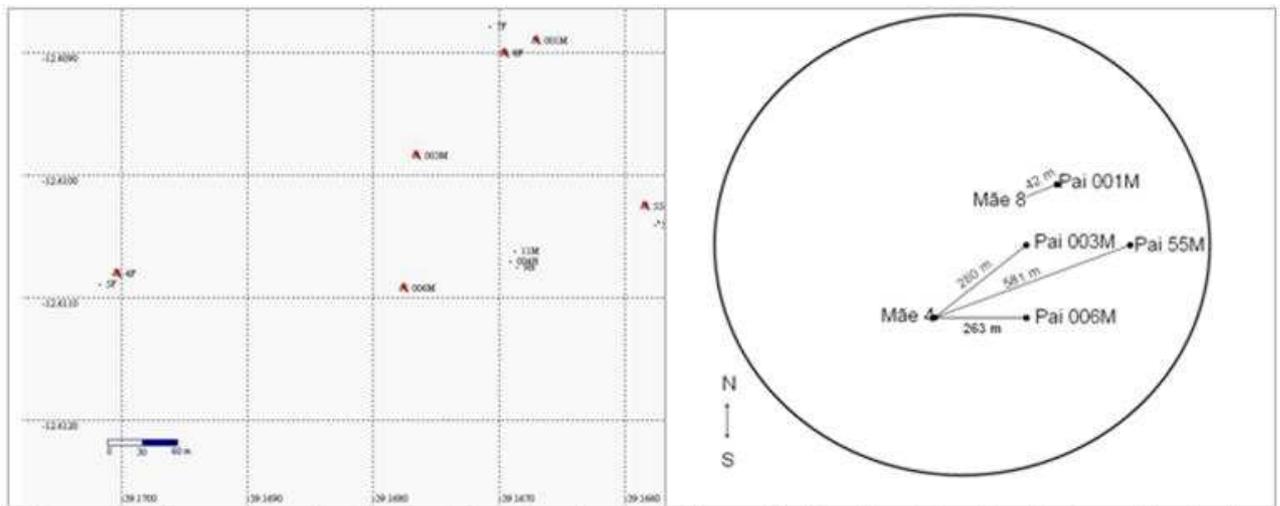


Figura 1a: Foto aérea da localização dos progenitores (pontos em vermelho) na área de São José do Itaporã/ Muritiba/BA. Google Earth, 2010.

Figura 1b: Detalhe da distância alcançada pelo pólen na área de São José do Itaporã/ Muritiba/BA. Google Earth, 2010.

CONCLUSÕES

- 1) Apesar de apresentar poucos locos polimórficos, os marcadores SSR podem ser utilizados como ferramenta para a detecção de fluxo gênico e estimativas de exclusão

de paternidade em mamoeiro, pela confiabilidade dos dados de exclusão de paternidade;

- 2) De acordo com as condições experimentais, é possível inferir que o pólen do mamoeiro pode alcançar mais de 518 m;
- 3) Os resultados deste trabalho podem subsidiar os trabalhos de biossegurança de mamoeiro transgênicos.

AGRADECIMENTOS

À Fapesb e ao CNPq pelo auxílio financeiro e concessão da bolsa de estudo.

REFERÊNCIAS

- BADILLO, V. **Monografia de la familia Caricaceae**. Maracay, Venezuela, 1971.
- CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorfisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, v.19, p.299-306, 2001.
- CURI, R. A.; LOPES, C.R. Evaluation of nine microsatellite loci and misidentification paternity frequency in a population of Gyr breed bovines. **Brazilian Journal of Veterinary research and Animal Science**, v. 39, p.129-135, 2002.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. **Focus** 12: 13-15, 1990.
- KEE, W. **Papaya in Hawaii**. Honolulu: Cooperative Extension Service. University of Hawaii, 1970. 57p. (Circular 436).
- OLIVEIRA, E.J.; AMORIM, V.B.O.; COSTA, J.L.; MATOS, E.L.S.; CASTELLEN, M.S.; PADUA, J.G.; DANTAS, J.L.L. Polymorphism of microsatellite markers in papaya (*Carica papaya* L.). **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 28, p. 519-530, 2010.
- WAGNER, H.W.; SEFC, K.M. **IDENTITY 1.0**. Centre for Applied Genetics, University of Agricultural Sciences Vienna. 1999.