

# AVALIAÇÃO DA ORIGEM DE VARIAÇÕES FENOTÍPICAS DA MANGA 'KEITT' CULTIVADA EM SÃO PAULO COM BASE EM MARCADORES RAPD

Fábio Gelape Faleiro<sup>1\*</sup>, Alberto Carlos Queiroz Pinto<sup>1</sup>, Carlos Jorge Rossetto<sup>2</sup>, Lilia M. Santos Fraga<sup>1</sup>, Solange R. Monteiro de Andrade<sup>1</sup>, Graciele Bellon<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Cerrados, Caixa Postal 08223, CEP 73310-970, Planaltina-DF; <sup>2</sup>Instituto Agronômico de Campinas - IAC; <sup>3</sup>UPIS-Faculdades Integradas. \*e-mail: ffaleiro@cpac.embrapa.br

## INTRODUÇÃO

A manga encontra no Brasil excelentes condições para o seu desenvolvimento e produção, sendo cultivada em quase todo território nacional. A produção comercial de manga no Brasil é altamente concentrada em poucas cultivares, sendo a cultivar Tommy Atkins responsável por cerca de 80% da área plantada (PINTO et al., 2002). A ampliação da atual base genética das cultivares utilizadas no Brasil é uma estratégia importante para garantir a sustentabilidade e a melhoria desta importante atividade agrícola. A cultivar Keitt, juntamente com outras cultivares tardias, têm sido avaliadas como alternativas à 'Tommy Atkins' e para utilização em programa de melhoramento (PINTO et al., 2002).

A cultivar Keitt tem sido cultivada em diferentes regiões do Brasil, apresentando algumas variações fenotípicas nessas regiões. Há em São Paulo, uma variedade de manga, semelhante à 'Keitt', porém com porte reduzido e frutos menores e alta produção (Dr. Jorge Rosseto, comunicação pessoal, 2003), que está sendo chamada 'Keitt Pequena'. Tais variações fenotípicas podem ter origem genética, ambiental ou ambas e, para esclarecer, em parte, essa dúvida, marcadores moleculares do DNA têm sido uma poderosa ferramenta.

## OBJETIVO

Avaliar a origem das variações fenotípicas observadas entre as variedades de manga 'Keitt Pequena' e 'Keitt' cultivadas em diferentes regiões do Estado de São Paulo, utilizando marcadores moleculares RAPD.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais genéticos analisados no presente trabalho foram: a variedade Keitt Pequena coletada em Serra Negra-SP, Monte Alto-SP e Aguai-SP selecionadas pelos fruticultores Clóvis Roberto Carra, Antônio Carlos de Camargo Vitorio e Paulo Fujita, respectivamente. Foi também analisada a 'Keitt' coletada em Serra Negra-SP e IAC-SP, além da 'Tommy Atkins' como um *outgroup* (Tabela 1). A escolha da 'Tommy Atkins' foi devido à sua ampla utilização em plantações comerciais e devido à mesma ascendência genética da Keitt, provavelmente a variedade Mulgoba.

DNA genômico de cada material foi extraído e amplificado pela técnica de RAPD. As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 13 µL, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, MgCl<sub>2</sub> 3 mM, 100 µM de cada um dos desoxiribonucleotídeos (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 0,4 µM de um *primer* (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA), uma unidade da enzima *Taq* polimerase e, aproximadamente, 15 ng de DNA. Para obtenção dos marcadores RAPD foram utilizados 13 *primers* decâmeros: OPD-02, OPD-03, OPD-13, OPE-01, OPE-06, OPE-11, OPF-02, OPF-05, OPF-12, OPG-10, OPG-11, OPH-04 e OPH-11. As amplificações foram aplicadas em gel de agarose (1,2%), corado com brometo de etídio. A separação eletroforética foi de, aproximadamente, quatro horas, a 90 volts. Ao término da corrida, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta.

Os marcadores RAPD gerados foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas distâncias genéticas e coeficiente de similaridade entre os diferentes materiais genéticos, utilizando-se o coeficiente de Nei e Li com o auxílio do Programa Genes (CRUZ, 1997). Com base na matriz de distâncias, foi realizada uma análise de agrupamento por métodos hierárquicos utilizando como critério o método do UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) e dispersão gráfica baseada em escalas multidimensionais usando o método das coordenadas principais, com auxílio do Programa SAS (SAS INSTITUTE Inc., 1990) e do Programa Statistica (STATSOFT Inc., 1999).



Figura 1. Fotos da 'Keitt pequena' (A), 'Keitt' (B), Tommy Atkins (C) e do processo de aplicação de amostras de DNA em gel de agarose (D e E).

## RESULTADOS

Os 13 *primers* utilizados nas amplificações geraram um total de 105 marcadores RAPD, dos quais 61 (58,1%) foram polimórficos. A média de marcadores RAPD por *primer* foi de 8,1. A porcentagem de marcadores polimórficos e a média de marcadores por *primer* dependem diretamente da variabilidade genética dos materiais analisados. Tais valores obtidos neste trabalho foram inferiores aos obtidos em outros trabalhos (RAVISHANKAR et al., 2000; FALEIRO et al., 2004), devido à alta similaridade genética entre os materiais analisados.

Os coeficientes de similaridade genética entre os materiais genéticos analisados variaram de 0,721 a 0,980 (Tabela 1). A média do coeficiente de similaridade entre materiais genéticos da variedade 'Keitt Pequena' foi de 0,975 (Tabela 2). Considerando que a técnica de RAPD pode ter um erro de 2 a 4% na avaliação das bandas, podemos concluir que, praticamente, não existem diferenças genéticas entre os materiais da variedade Keitt Pequena coletados em diferentes regiões de São Paulo. Inferência semelhante pode ser feita para os materiais genéticos da cv. Keitt coletados em Serra Negra e no IAC, os quais tiveram uma similaridade genética de 0,967 (Tabela 1). Por outro lado, analisando-se o coeficiente de similaridade médio de 0,927 entre a variedade Keitt Pequena e a cv. Keitt (Tabela 2), pode-se inferir que as diferenças no porte da planta e tamanho dos frutos podem ser de origem genética.

As análises de agrupamento por métodos hierárquicos (Figura 1) e por dispersão gráfica (Figura 2) ilustram os resultados obtidos com base na análise dos coeficientes de similaridade. Pode-se dividir os materiais analisados em três grupos de similaridade: o primeiro formado pelos materiais genéticos da variedade Keitt Pequena, o segundo pelos materiais da cv. Keitt e o terceiro pela 'Tommy Atkins'. É possível verificar também a alta similaridade genética entre o grupo da 'Keitt Pequena' e o da 'Keitt' (Figura 1 e 2).

Tabela 1. Matriz de coeficientes de similaridade entre seis materiais genéticos de manga, calculados com base no coeficiente de similaridade de Nei e Li, baseado em 105 marcadores RAPD.

Materiais genéticos	1	2	3	4	5	6	
'Keitt pequena' - Serra Negra	1	1,000					
'Keitt pequena' - Monte Alto	2	0,980	1,000				
'Keitt pequena' - Aguai	3	0,980	0,965	1,000			
'Keitt' - Serra Negra	4	0,940	0,929	0,953	1,000		
'Keitt' - IAC	5	0,899	0,905	0,933	0,967	1,000	
'Tommy Atkins'	6	0,734	0,744	0,747	0,734	0,721	1,000

Tabela 2. Coeficientes de similaridade médios entre grupos de materiais genéticos de manga, baseados nos coeficientes da Tabela 1.

Materiais genéticos	1	2	3	
'Keitt pequena'	1	0,975		
'Keitt'	2	0,927	0,967	
'Tommy Atkins'	3	0,742	0,727	1,000

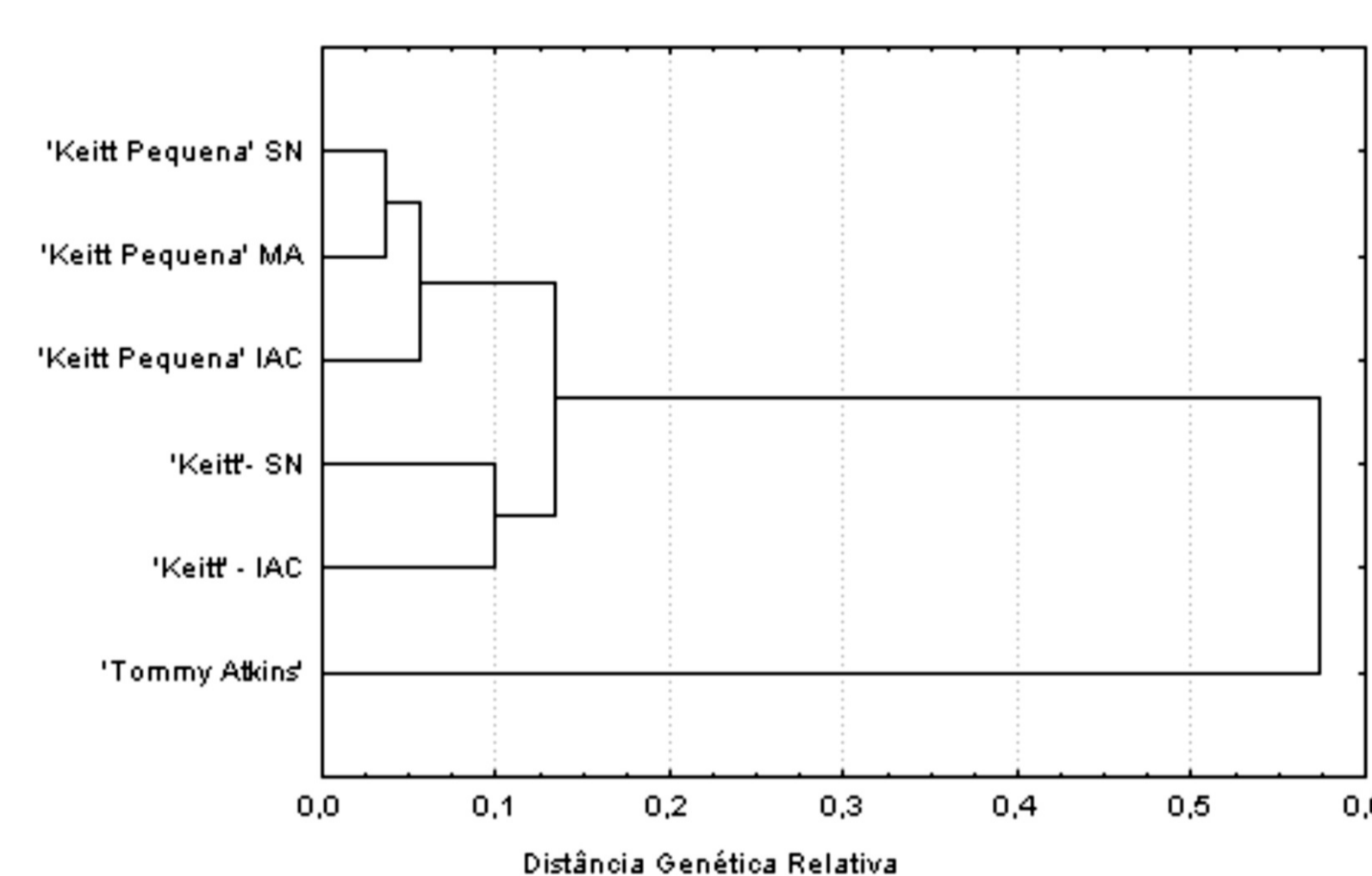


Figura 2. Análise de agrupamento de seis materiais genéticos de manga com base na matriz de distâncias genéticas calculadas usando 105 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento. SN = Serra Negra; MA = Monte Alto; A = Aguai.

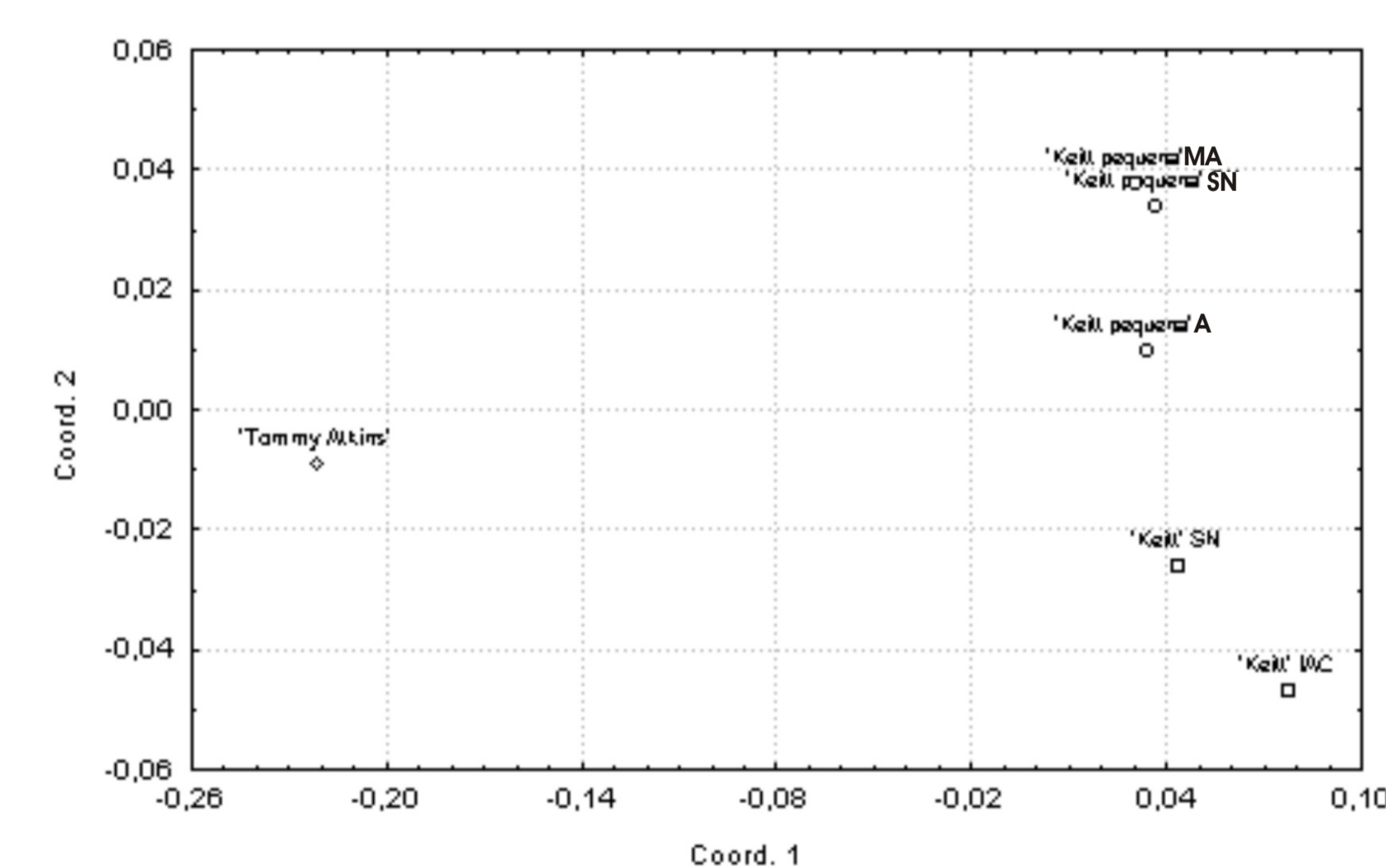


Figura 3. Dispersão gráfica e análise de agrupamento de seis materiais genéticos de manga com base na matriz de distâncias genéticas calculadas usando 105 marcadores RAPD. SN = Serra Negra; MA = Monte Alto; A = Aguai.

## CONCLUSÕES

Os marcadores moleculares RAPD permitiram concluir que as características fenotípicas de porte e tamanho dos frutos que diferenciam a variedade 'Keitt Pequena' da cv. 'Keitt', podem ter origem genética. Trabalhos mais detalhados de herdabilidade envolvendo a avaliação de materiais clonais de cada variedade seriam necessários para confirmar e quantificar a origem genética de tais características.

## LITERATURA CITADA

- CRUZ, C.D. Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: Editora UFV, 1997. 648p.
- FALEIRO, F.G.; PINTO, A.C.Q.; CORDEIRO, M.C.R.; RAMOS, V.H.V.; BELLON, G. ANDRADE, S.R.M.; PINTO, J.F.N. Genetic variability of mango (*Mangifera indica* L.) varieties used in Embrapa Cerrados breeding program using RAPD markers. *Acta Horticulturae*, The Hague-Holanda. 2004. (in press).
- PINTO, A.C.Q.; SOUZA, V.A.B.; ROSSETO, C.J.; FERREIRA, F.R.; COSTA, J.G. Melhoramento genético In: GENUÍ, P.J.C.; A.C.Q. PINTO (eds.). A cultura da manga. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. p.51-92.
- RAVISHANKAR, K.V.; ANAND L.; DINESH, M.R. Assessment of genetic relatedness among cultivars of India using RAPD markers. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, Ashford Kent-Inglaterra 75:198-201. 2000.
- SAS INSTITUTE Inc. SAS/STAT user's guide. Version 6, 4 ed. SAS Institute, North Carolina, Cary. 1989.
- STATSOFT Inc. Statistica for Windows [Computer program manual]. Tulsa, OK. StatSoft Inc. 2300 East 14<sup>th</sup> Street, Tulsa. 1999.