



# Fruticultura

Bento Gonçalves - RS  
22 a 26 de outubro de 2012

## VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE E DENTRO DE VARIEDADES DE MANGUEIRA UTILIZADAS COMO PORTA-ENXERTO COM BASE EM MARCADORES RAPD

FÁBIO GELAPE FALEIRO<sup>1</sup>; FRANCISCO PINHEIRO LIMA NETO<sup>2</sup>; MARCELO FIDELES BRAGA<sup>3</sup>; NILTON TADEU VILELA JUNQUEIRA<sup>3</sup>; LAERTE SCANAVACA JÚNIOR<sup>4</sup>; CARLOS JORGE ROSSETO<sup>5</sup>

### INTRODUÇÃO

Mais de uma centena de variedades locais de mangueira são cultivadas em praticamente todo território brasileiro. No Brasil, ainda podem ser encontradas, em diferentes locais, as variedades locais do tipo “Comum”, “Espada”, “Coquinho”, “Rosa”, “Ouro”, entre várias outras. Grande parte dessas variedades locais de manga não apresentam características comerciais aceitáveis, entretanto apresentam características adequadas para serem utilizadas como porta-enxerto como a poliembrionia; tolerância a condições adversas do solo, resistência a doenças e boa compatibilidade com variedades copa (PINTO et al., 2002).

As diferentes variedades de mangueira locais têm sido utilizadas como porta-enxerto, podendo apresentar diferentes efeitos na produtividade do pomar. Algumas destas variedades locais têm apresentando algumas variações fenotípicas nas diferentes regiões brasileiras. Tais variações fenotípicas podem ter origem genética (quando diferentes materiais recebem o mesmo nome em diferentes regiões) ou ambiental (quando o mesmo material apresenta diferentes fenótipos devido a diferenças edafoclimáticas das diferentes regiões). Para esclarecer, em parte, essa dúvida sobre a origem genética ou ambiental de variações fenotípicas, marcadores moleculares do DNA têm sido uma ferramenta bastante útil (FALEIRO et al., 2010a). Neste trabalho, objetivou-se avaliar a origem das variações fenotípicas de variedades comuns de mangueira utilizadas como porta-enxerto cultivadas em diferentes regiões do Brasil, utilizando marcadores moleculares RAPD.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais genéticos analisados no presente trabalho foram cinco amostras da variedade ‘Espada’ coletadas na Embrapa Cerrados, na cidade de Itápolis, Embrapa Semi-Árido, Embrapa

<sup>1</sup> Eng. Agr., pesquisador Embrapa Cerrados, CP 08223, 73310-970 Planaltina DF, e-mail: fabio.faleiro@embrapa.br

<sup>2</sup> Eng. Agr., pesquisador da Embrapa Semi-Arido e-mail: pinheiro.neto@cpatsa.embrapa.br

<sup>3</sup> Eng. Agr., pesquisadores da Embrapa Cerrados, e-mail: marcelo.fideles@embrapa.br, nilton.junqueira@embrapa.br

<sup>4</sup> Eng. Agr., pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, e-mail: laerte@cnpmf.embrapa.br

<sup>5</sup> Eng. Agr., pesquisador do Instituto Agronômico, e-mail: rossetto@iac.sp.gov.br

\* Este trabalho teve a contribuição do Dr. Valdomiro A. Barbosa de Souza (*in memoriam*)

Mandioca e Fruticultura e Embrapa Meio Norte, duas amostras da variedade 'Coquinho' coletadas em Votuporanga e na Embrapa Semi-Árido e duas amostras da variedade 'Comum' coletadas na Embrapa Cerrados e na Embrapa Meio Norte (Tabela 1).

Folhas de cada material genético foram coletadas e o DNA genômico extraído utilizando o método do CTAB, com modificações. Amostras de DNA de cada material genético foram amplificadas 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 10 primers decâmeros: OPD-02, OPD-03, OPD-05, OPE-01, OPE-11, OPF-02, OPF-03, OPF-12 e OPH-17. As amplificações foram efetuadas em termociclador programado para 40 ciclos, cada um constituído pela seguinte seqüência: 15 segundos a 94 °C, 30 segundos a 35 °C e 90 segundos a 72 °C. Após os 40 ciclos, foi feita uma etapa de extensão final de seis minutos a 72 °C, e finalmente, a temperatura foi reduzida para 4 °C. Após a amplificação, foram adicionados, a cada amostra, 3 µl de uma mistura de azul de bromofenol (0,25%) e glicerol (60%) em água. Essas amostras foram aplicadas em gel de agarose (1,2%), corado com brometo de etídio, submerso em tampão TBE (Tris-Borato 90 mM, EDTA 1 mM). 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 acessos, com base no coeficiente de similaridade de Nei & Li, utilizando-se o Programa Genes. A matriz de distâncias genéticas foi utilizada para realizar a análise de dispersão gráfica baseada em escalas multidimensionais usando o método das coordenadas principais, com auxílio do Programa SAS e do Programa Statistica.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os 10 primers utilizados nas amplificações geraram um total de 156 marcadores RAPD, dos quais 105 (67,3%) foram polimórficos. A média de marcadores RAPD por primer foi de 15,6. A alta porcentagem de marcadores polimórficos e a alta média de marcadores por primer evidenciam a variabilidade genética dos materiais analisados. Tais valores obtidos neste trabalho foram semelhantes aos obtidos por Faleiro et al. (2010b) que analisaram 28 cultivares de manga.

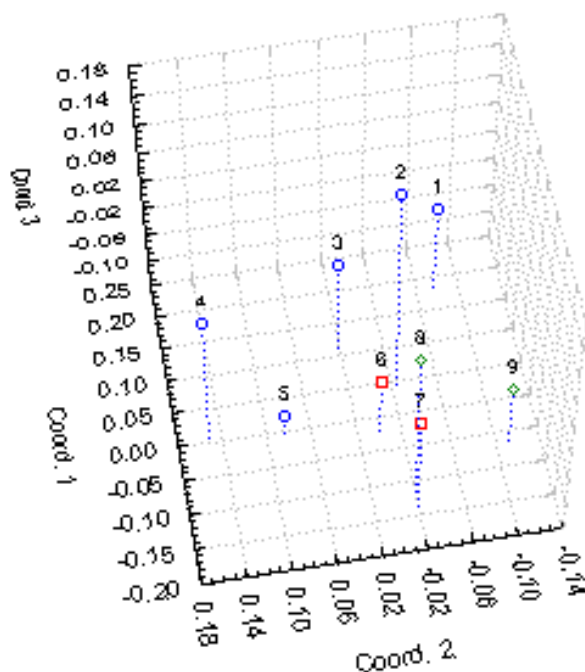
Os coeficientes de dissimilaridade genética entre os materiais analisados mostraram uma variabilidade genética entre e dentro das variedades (Tabela 1). As distâncias genéticas entre os acessos de manga Espada variaram entre 0,149 (Embrapa Cerrados e Embrapa Semi-Árido) e 0,277

(Itápolis e Embrapa Meio-Norte). As distâncias entre os dois acessos de Coquinho e de Comum foram de 0,151 e 0,177, respectivamente. Estes valores de dissimilaridade genética verificados entre acessos da mesma variedade permite concluir com muita certeza que existem diferenças genéticas entre esses acessos. A multiplicação destes acessos por sementes nas diferentes regiões, possivelmente levaram a uma diferenciação genética, principalmente considerando a natureza heterozigótica e a alogamia verificada na mangueira.

**Tabela 1** - Matriz de distâncias genéticas entre nove acessos de três variedades de mangueira comumente utilizadas como porta-enxerto, calculadas com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei e Li, utilizando-se 156 marcadores RAPD.

	Espada					Coquinho		Comum	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. Espada Embrapa Cerrados	0.000	0.255	0.149	0.262	0.263	0.252	0.288	0.282	0.278
2. Espada Itápolis	0.255	0.000	0.170	0.216	0.277	0.192	0.231	0.216	0.231
3. Espada Embrapa Semi-Árido	0.149	0.170	0.000	0.206	0.161	0.154	0.257	0.243	0.223
4. Espada Embrapa Mandioca e Fruticultura	0.262	0.216	0.206	0.000	0.176	0.196	0.222	0.227	0.260
5. Espada Embrapa Meio-Norte	0.263	0.277	0.161	0.176	0.000	0.122	0.212	0.206	0.204
6. Coquinho Votuporanga	0.252	0.192	0.154	0.196	0.122	0.000	0.151	0.174	0.138
7. Coquinho Embrapa Semi-Árido	0.288	0.231	0.257	0.222	0.212	0.151	0.000	0.100	0.147
8. Comum Embrapa Cerrados	0.282	0.216	0.243	0.227	0.206	0.174	0.100	0.000	0.177
9. Comum Embrapa Meio-Norte	0.278	0.231	0.223	0.260	0.204	0.138	0.147	0.177	0.000

O gráfico de dispersão ilustra as diferenças genéticas entre e dentro das três variedades analisadas (Figura 1). A distribuição e posicionamento dos acessos no gráfico ilustra uma maior variabilidade entre e uma menor variabilidade dentro das variedades, evidenciando, principalmente, as diferenças genéticas entre os acessos de manga Espada provenientes de diferentes locais do Brasil. Tais diferenças genéticas podem levar a diferentes efeitos dos acessos de manga Espada utilizados como porta-enxertos de variedades copa. Pensando em experimentos de competição entre variedades comerciais, seria importante considerar possíveis efeitos do porta-enxerto a ser utilizado na produção das mudas. Para minimizar efeitos diferenciados dos diferentes acessos da manga Espada, seria necessário utilizar um único acesso (procedência) como porta-enxerto. Outra opção seria contabilizar os efeitos dos porta-enxertos, mediante o uso de parcelas subdivididas (efeito de variedade subdividido em efeito de diferentes porta-enxertos).



**Figura 1** - Dispersão gráfica em 3D de nove acessos de manga com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 156 marcadores RAPD. Os números correspondem aos acessos da Tabela 1.

## CONCLUSÕES

Os marcadores moleculares RAPD permitiram analisar e quantificar as diferenças genéticas entre e dentro de acessos das variedades Espada, Coquinho e Comum de manga utilizadas como porta-enxerto e cultivadas em diferentes regiões do Brasil. Tais diferenças podem levar a efeitos diferenciados do porta-enxerto, mesmo utilizando acessos da mesma variedade.

## REFERÊNCIAS

- FALEIRO, F.G.; CORDEIRO, M.C.R.; PINTO, A.C.Q.; ROSSETO, C.J.; BELLON, G.; ANDRADE, S.R.M.; FRAGA, L.M.S.; SOUZA, T.L.P.O. Fingerprinting analysis of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars introduced in Brazil using RAPD markers. **Acta Horticulturae**, v. 864, p. 127-132. 2010a.
- 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.) cultivars used in the Embrapa Cerrados breeding program using RAPD markers. **Acta Horticulturae**, v. 864, p. 93-98. 2010b.
- PINTO, A.C.Q., COSTA, J.G., SANTOS, C.A.F. **Principais variedades**. In: P.J.C. Genú and A.C.Q. Pinto (eds.). A cultura da manga. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. p.93-116.