

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E**  
**BIOLOGIA MOLECULAR**



**DIVERSIDADE GENÉTICA DE VARIEDADES E PROGÊNIES DE**  
**MANGA COM BASE EM MARCADORES MOLECULARES E**  
**CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS**

**ELAINI OLIVEIRA DOS SANTOS ALVES**

**ILHÉUS – BAHIA – BRASIL**

**Março de 2010**

ELAINI OLIVEIRA DOS SANTOS ALVES

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE VARIEDADES E PROGÊNIES DE  
MANGA COM BASE EM MARCADORES MOLECULARES E  
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Santa Cruz, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Área de concentração: Genética e Biologia Molecular.

**ILHÉUS – BAHIA – BRASIL**

**Março de 2010**

ELAINI OLIVEIRA DOS SANTOS ALVES

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE VARIEDADES E PROGÊNIES DE MANGA COM  
BASE EM MARCADORES MOLECULARES E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-  
QUÍMICAS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Santa Cruz, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Área de concentração: Genética e Biologia Molecular.

APROVADA: 04 de março de 2010

Prof. Dr. Fábio Gelape Faleiro  
(Embrapa)

Profa. Dra. Fernanda Amato Gaiotto  
(UESC)

Profa. Dra. Simone Gualberto Santos  
(UESC)

Prof. Dr. Ronan Xavier Corrêa  
(UESC – Orientador)

## DEDICATÓRIA

*À minha mãe, Joana Oliveira dos Santos,  
ao meu pai, Belarmínio Ferreira Alves (in memoriam)  
e ao meu padrinho, Pedro Rivaldo Lima,  
dedico.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por razões que considero indescritíveis e imensuráveis.

À minha família, pela confiança e pelo apoio.

Ao professor Dr. Ronan Xavier Corrêa, por ultrapassar as obrigações de orientador com toda sua compreensão agregada ao constante incentivo e importantes ensinamentos de vida.

Ao Dr. Francisco Pinheiro Lima Neto, pela co-orientação, colaboração e conselhos essenciais para o ingresso e a manutenção no curso.

À professora Dra. Ioná dos Santos Araújo, pela co-orientação e pelo incentivo.

Ao professor Ms. Carlos Bernard Cerqueira-Silva, pela colaboração nas análises estatísticas, bem como pela disponibilidade para compartilhar seus conhecimentos.

À Rita Mércia Estigarribia Borges, quem orientou meus primeiros passos na área de pesquisa.

Aos amigos Larissa, Marciene, Daniela, Djalma, Cida e Andréia, pelo incentivo ao meu ingresso no mestrado e pela fidelidade na amizade apesar da distância física que esse fato causou.

A todos os colegas do curso, especialmente Mariana, Gisa, Viviane, Sara, Luciana, Marla, Juliano e André, pelo convívio e pela amizade.

Aos colegas de laboratório Daniela e Samuel, pela ajuda imprescindível e indispensável nas técnicas de Biologia Molecular.

À Kátia, Cíntia, Zuzi, Gabriela, Pabliane, Priscila, Van e Olívia, colegas do laboratório de citogenética, por compartilharem experiências e estarem sempre dispostas a auxiliar.

A Ivandilson, Jeiza, Claudine e Bruna, pelo auxílio na manipulação de softwares estatísticos e pelas sugestões cotidianas, além da simpatia que alegrou o cotidiano da pesquisa.

Às amigas, Tatiana, Edgenane, Ana Célia e Osmiria, pela manutenção da verdadeira amizade que temos, independente de onde eu esteja.

Às secretarias do Programa de Pós-graduação em genética e Biologia Molecular, Luciana e Fabrícia, pela presteza dispensada durante este curso.

Ao técnico do laboratório de Patologia Pós-colheita da Embrapa Semi-árido, Carlos Antônio da Silva, pelo auxílio na execução dos trabalhos.

Ao técnico da Fazenda UPA Agrícola, Adailton Coelho Neves, pelo auxílio na coleta do material vegetal.

Ao Dr. Carlos Antônio Fernandes Santos, pesquisador da Embrapa Semi-Árido, pela grande contribuição com o experimento de campo.

À Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), por oferecer as condições necessárias para a realização deste curso.

À Coordenação do Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, pelo apoio logístico.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro e pela concessão da bolsa de mestrado.

À Embrapa Semiárido, pela disponibilização do experimento e do conhecimento produzido pelo programa de melhoramento de manga.

À Fazenda UPA Agrícola, pela cessão de material vegetal.

A todos que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho, agradeço.

## EXTRATO

ALVES, Elaini Oliveira dos Santos, M.S., Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, março de 2010. **Diversidade genética de variedades e progênies de manga com base em marcadores moleculares e características físico-químicas.** Orientador: Ronan Xavier Corrêa. Co-orientadores: Francisco Pinheiro Lima Neto e Ioná dos Santos Araújo.

O conhecimento da diversidade genética entre variedades comerciais de manga é importante na busca de novas variedades promissoras, uma vez que o melhoramento genético pode levar ao estreitamento da base genética. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi estimar a diversidade genética entre seis variedades comerciais de manga ('Tommy Atkins', 'Haden', 'Van Dyke', 'Keitt', 'Palmer' e 'Espada') por meio de marcadores SSR (Simple Sequence Repeat) e em progênies de cruzamentos de 'Tommy Atkins' com 'Haden', 'Van Dyke', 'Keitt', 'Palmer' e 'Espada' mediante características físico-químicas de frutos, bem como estudar a correlação entre essas características. Com base nos dados SSR, observou-se que 73,91% dos locos foram polimórficos, com número de alelos variando de um a cinco. A porcentagem de heterozigose das variedades variou de 30,43 a 56,52. As distâncias genéticas calculadas entre as seis variedades de manga com base nos marcadores SSR variaram de 0,34 (entre 'Palmer' e 'Keitt') a 0,91 (entre 'Haden' e 'Espada'). Com base nestas distâncias, dentre as combinações de cruzamentos com a variedade 'Tommy Atkins', as com 'Keitt' e 'Haden' revelaram maior potencial para gerar uma maior diversidade de combinações híbridas, sendo indicadas para estudos de mapeamento genético. Os marcadores microssatélites possibilitaram evidenciar a diversidade genética entre os cultivares de manga

estudados, mostrando-se suficientes para discriminar as relações entre variedades aparentadas. Os resultados médios encontrados para maioria dos cruzamentos em relação às variáveis físico-químicas dos frutos indicam que foram gerados recombinantes desejáveis para o melhoramento genético. O cruzamento da ‘Espada’ com ‘Tommy Atkins’ demonstrou uma maior dispersão nos dados, quantificada pelo coeficiente de variância. A progênie proveniente do cruzamento entre ‘Tommy Atkins’ com ‘Espada’ apresentou as maiores distâncias genéticas em relação às progênies dos outros cruzamentos, além de apresentar a maior variabilidade entre os genótipos. No agrupamento dos híbridos, o maior grupo reuniu híbridos provenientes dos cruzamentos da ‘Tommy Atkins’ com ‘Haden’, ‘Van Dyke’, ‘Keitt’ e ‘Palmer’, exceto com a ‘Espada’. A distinção da ‘Espada’ em relação às demais variedades analisadas foi constatada no agrupamento das variedades genitoras com base em dados SSR e nas distâncias euclidianas entre as populações segregantes dos cinco cruzamentos, o que justifica seus híbridos se apresentarem em grupos distintos. A combinação de dados morfológicos e moleculares comprova a possibilidade de correlacionar marcadores moleculares a determinados genes de interesse, visando à seleção precoce e a futuros mapeamentos genéticos em manga. As correlações significativas entre as características físico-químicas de frutos sugerem que a coloração dos frutos é um indicador de qualidade, já que uma coloração atraente está estreitamente relacionada com frutos de tamanho médio e alto teor de sólidos solúveis. Com base nos resultados do presente trabalho, sugere-se o uso das estimativas de distância genética por marcadores SSR para fornecer uma informação imediata da variabilidade genética disponível em variedades de *M. indica* e ressalta-se que o uso de descritores físico-químicos ainda é essencial, uma vez que fornecem informação sobre a variabilidade genética e são fundamentais para a identificação de genótipos de manga com qualidades superiores em relação aos frutos.

**Palavras-chave:** Manga, SSR, qualidade de frutos, marcador genético, parâmetros morfológicos, melhoramento genético.



## ABSTRACT

ALVES, Elaini Oliveira dos Santos, M.S., Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, march of 2010. **Genetic diversity of mango varieties and progenies based on molecular markers and physical-chemical traits.** Advisor: Ronan Xavier Corrêa. Co-Advisors: Francisco Pinheiro Lima Neto e Ioná dos Santos Araújo.

Knowledge of genetic diversity among mango commercial varieties is important in the search for promising new varieties, since genetic breeding can lead to narrowing the genetic base. Thus, the purpose of this study was to estimate the genetic diversity among six mango commercial varieties ('Tommy Atkins', 'Haden', 'Van Dyke', 'Keitt', 'Palmer' and 'Espada') by markers SSR (Simple Sequence Repeat) and in progeny from crosses of 'Tommy Atkins' with 'Haden', 'Van Dyke', 'Keitt', 'Palmer' and 'Espada' by physical and chemical characteristics of fruits as well as to study the correlation between these characteristics. Based on SSR data, it was found that 73.91% of the loci were polymorphic, with allele number ranging from one to five. The heterozygosity percentual of the varieties ranged from 30.43 to 56.52. The genetic distances calculated between the six mango varieties based on SSR markers ranged from 0.34 (between 'Palmer' and 'Keitt') to 0.91 (between 'Haden' and 'Espada'). Based on these distances, among the combinations of crosses with the variety 'Tommy Atkins', those with the 'Keitt' and 'Haden' showed the greatest potential to generate a greater diversity of hybrid combinations, and suitable for genetic mapping studies. The microsatellite markers showed genetic diversity among mango cultivars studied and proved to be enough to distinguish the relationships between varieties related. The mean values found in most crosses in relation to fruits physicochemical

variables indicate that were generates recombinant desirable for genetic breeding. The crossing of the 'Espada' and 'Tommy Atkins' varieties showed a greater dispersion in the data, quantified by the coefficient of variance. The diversity in the progenies studied showed considerable genetic variability among genotypes of the progenies and between the progenies evaluated, as visualized in the analysis of comparison of the average and in the coefficient of variation. The progeny from cross between 'Tommy Atkins' and 'Espada' showed the greatest distances in relation to the progenies of the other crossings, in addition to presenting the greatest variability among genotypes. In the group of hybrids, the largest group met hybrids derived from crosses of 'Tommy Atkins' with 'Haden', 'Van Dyke', 'Keitt' and 'Palmer', except with the 'Espada'. The distinction of 'Espada' in relation to the other varieties examined was found in the grouping of the varieties parental based on SSR data and euclidean distances between segregating populations from five crosses, which justifies their hybrids present themselves in different groups. The combination of morphological and molecular data confirms the ability to correlate molecular markers to specific genes of interest, aiming at the early selection and future genetic mapping in mango. The significant correlations between the physical and chemical characteristics of fruits suggest that fruit color is an indicator of quality since an attractive coloration is closely related fruits of medium size and high content of soluble solids. Based on the results of this work, we suggest the use of genetic distance by SSR markers provide immediate information to the genetic variability available in varieties of *M. indica* and emphasize that the use of physical-chemical descriptors is still essential, since they provide information about genetic variability and are crucial for the identification of mango genotypes with superior qualities compared to the fruits.

**Keywords:** Mango, SSR, fruit quality, genetic markers, morphological parameters, breeding.

## ÍNDICE

EXTRATO .....	vi
ABSTRACT .....	viii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1. A mangicultura no Brasil .....	4
2.2. Aspectos relacionados ao melhoramento genético da manga .....	6
2.3. Aspectos relacionados à qualidade das mangas .....	8
2.4. Caracterização da variabilidade genética .....	10
2.5. Marcadores moleculares no estudo da variabilidade genética.....	11
3. METODOLOGIA.....	15
3.1. Material vegetal.....	15
3.2. Análises moleculares .....	16
3.3. Análise das características físico-químicas de frutos.....	18
3.4. Análises estatísticas.....	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	20
4.1. Análises SSR .....	20
4.2. Análises das características físico-químicas dos frutos .....	26
5. CONCLUSÕES .....	39
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	40

## 1. INTRODUÇÃO

A mangueira (*Mangifera indica* L.) foi domesticada há pelo menos quatro milênios e atualmente é uma das mais importantes frutíferas de clima tropical caracterizando-se por produzir frutos de ótima qualidade. Devido à sua boa plasticidade fenotípica, o cultivo dessa espécie se expandiu dos locais de origem para diversos países nas regiões tropicais e subtropicais (PINTO et al., 2002a).

A manga é uma das frutas mais procuradas no mundo e é consumida preferencialmente *in natura*, podendo ser industrializada de diversas formas (RAMOS et al., 2004).

O mercado potencial para exportação de manga vem crescendo bastante nos últimos anos e, em conjunto, cresce a exigência quanto à qualidade dos frutos, que é o principal fator que influencia a exportação da manga *in natura* (FONSECA, 1994). A integração do Brasil aos mercados internacionais e a crescente busca do consumidor por produtos de melhor qualidade são incentivos para que os produtores ofereçam produtos diferenciados e de melhor qualidade. Porém, a base da mangicultura brasileira está concentrada apenas em um cultivar ('Tommy Atkins'), proporcionando sérios riscos à sua sustentabilidade. Assim, o melhoramento genético torna-se ferramenta de fundamental importância no desenvolvimento de novos cultivares, contribuindo para a sustentabilidade do agronegócio na manga nacional (PINTO, 2004; RAMOS, 2004). Por isso, entre os objetivos dos programas de melhoramento da mangueira destaca-se a obtenção de variedades que apresentem frutos com qualidade superior.

A condição básica para obter cultivares superiores é a variabilidade genética, a qual possibilita a ocorrência de combinações reunindo o maior número de atributos desejáveis em um genótipo.

Além dos tradicionais marcadores morfológicos e caracteres quantitativos utilizados para caracterizar a variabilidade genética em plantas (CRUZ et al., 2004), as técnicas biomoleculares (desenvolvidas mais recentemente), amplamente utilizadas para esta finalidade, têm promovido maior robustez nas análises genéticas por permitirem um acesso mais direto à informação genética, além de possibilitar a obtenção dos resultados de forma mais rápida. Apesar das grandes vantagens das análises moleculares, a caracterização dos frutos ainda é uma atividade primordial na geração de conhecimentos sobre a variabilidade genética disponível em programas de melhoramento de fruteiras em geral, inclusive mangueira, além de subsidiar a seleção de genótipos superiores.

As técnicas biomoleculares auxiliam na caracterização genética porque permitem identificar pontos de referência nos cromossomos, tecnicamente denominados marcadores moleculares. Vários marcadores moleculares estão disponíveis para a caracterização da diversidade genética. Entre eles os microssatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeat*) se destacam pelo alto polimorfismo geralmente revelado por meio dessa técnica (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; MILACH, 1998), o que leva a esperar sua eficácia em estudos de quantificação da variabilidade genética. Atualmente, a caracterização molecular tem sido utilizada para complementar a análise dos dados fenotípicos, pois fornece um estudo direto do genótipo, não sofrendo assim influência ambiental.

O melhoramento genético de culturas perenes apresenta limitações causadas por seu longo período juvenil, o qual retarda a obtenção de dados relacionados às características dos frutos e aumenta o custo de avaliação de campo devido à necessidade de maiores áreas e tempo de experimentação (SERA; ALVES, 1999). A coleta desses dados demanda muito tempo, além de as informações obtidas serem fenotípicas, não reproduzindo com precisão a diversidade genética (DIAS et al., 1997). No entanto, o grande esforço despendido na obtenção desse tipo de dados baseia-se no pressuposto de que a variabilidade fenotípica é resultado da ação conjunta de efeitos genéticos e de ambiente.

Com base no exposto, este trabalho teve como principais objetivos:

- Caracterizar e quantificar a variabilidade genética entre seis variedades comerciais ('Haden', 'Tommy Atkins', 'Keitt', 'Van Dyke', 'Espada' e 'Palmer') por meio de marcadores microssatélites;

- Caracterizar e quantificar a variabilidade genética de cinco populações segregantes com base em variáveis físico-químicas de frutos;
- Analisar a correlação entre diferentes variáveis físico-químicas do fruto de mangueira.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. A mangicultura no Brasil

As primeiras introduções de mangueira no Brasil ocorreram no século XVI, quando os portugueses trouxeram do Sudeste da Ásia para a Bahia variedades poliembriônicas, de frutos fibrosos, também conhecidos como raça filipínica (PINTO et al., 2002a). Como as sementes de manga são recalcitrantes e não podem sobreviver por mais de poucos dias ou semanas, isso só foi possível porque os portugueses introduziram métodos de propagação vegetativa na Índia, quando estabeleceram postos de comércio ao longo da costa oeste do país no século XV (LITZ; GOMEZ-LIM, 2002; LITZ, 2009).

O cultivo desses tipos poliembriônicos no Brasil resultou em muitos tipos regionais de mangueiras originados pela propagação de sementes, como a Espada e Rosa. A partir da segunda metade do século XX foram introduzidas cultivares monoembriônicas provenientes de melhoramento genético realizado na América do Norte, tais como 'Tommy Atkins', 'Keitt', 'Palmer', 'Haden' e 'Van Dyke' (PINTO et al., 2002a; SOARES, 2000), que, em decorrência do advento da agricultura irrigada no nordeste brasileiro, provocaram uma grande mudança no cultivo dessa frutífera no Brasil com a produção de frutos com características superiores.

A moderna mangicultura brasileira está baseada nas variedades americanas, sendo que a 'Tommy Atkins' representa 90% da constituição dos pomares comerciais (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2007). Esta variedade conquistou os principais mercados internacionais em decorrência de alguns

atributos, como a atraente coloração, o satisfatório rendimento e, especialmente, a grande resistência ao transporte e à deterioração (PINTO et al., 2002b).

O Brasil é um dos maiores produtores e exportadores de manga no mundo, sendo a Bahia o estado brasileiro que mais produz e exporta manga, tendo produzido em 2008 o correspondente a mais de 51% da safra nacional (mais de 1,11 milhão de toneladas), e de onde foram exportadas 56,1 mil toneladas de manga. A manga que é produzida na Bahia tem uma ótima aceitação no mercado internacional, colocando o estado em primeiro lugar nas exportações nacionais da fruta. Constata-se que a exportação ainda é baixa quando comparada com o total produzido (OLIVEIRA; ANJOS, 2008).

No entanto, os índices de crescimento de exportação e receita vêm aumentando nos últimos anos. Comparando-se os resultados de 2007 e 2008, houve um aumento de 20% nas exportações, o que proporcionou um aumento de 46% na receita. Em oito anos, entre 2000 e 2008, a área plantada com manga na Bahia apresentou uma variação de 136%, saindo de 13 mil hectares para mais de 31 mil ha. (OLIVEIRA; ANJOS, 2008). Portanto, a mangueira representa uma opção importante, em matéria de frutas, para o Brasil. Além disso, o valor social da mangicultura é outro aspecto de grande importância, pois emprega um contingente expressivo de mão-de-obra, estimado em pouco mais de 104 mil pessoas (OLIVEIRA; ANJOS, 2008).

Embora amplamente cultivadas, mangas preferem ambientes tropicais com clima bem definido e um inverno seco. A chuva e alta umidade durante o florescimento e desenvolvimento dos frutos reduzem o rendimento das frutas (BALLY, 2006). O período seco deve ocorrer bem antes do florescimento, de modo a permitir à planta um período de repouso vegetativo, e prolongar-se até a frutificação para evitar a incidência de doenças que ocorrem em alta umidade (CUNHA et al., 1994). A região semi-árida do Nordeste brasileiro possui essas características propícias, onde também é possível produzir, mediante a aplicação do processo de indução floral, nas entressafras de outros estados e até mesmo dos outros países produtores e competidores no mercado internacional. Porém, segundo Lima Neto et al. (2008), embora o Vale do São Francisco seja responsável por quase toda a exportação das mangas brasileiras, a maioria da colheita proporcionada pela região permanece realmente no mercado interno, comercializada quase que integralmente para o consumo direto.



A variedade 'Tommy Atkins', que é tão aceita no mercado interno e, principalmente no externo, possui alguns problemas, dentre os quais se destacam os relacionados ao sabor, em virtude principalmente do baixo teor de sólidos solúveis, e os distúrbios tais como a malformação floral e o colapso interno do fruto (PINTO et al., 2002b; DIAS et al., 2003). Além disso, a exacerbada predominância desta variedade na mangicultura nacional proporciona sérios riscos à sustentabilidade da atividade, no que diz respeito ao comparecimento de doenças devastadoras e às possíveis alterações na preferência dos mercados. Assim, se faz necessário introduzir novas variedades à mangicultura brasileira que contribuam para a sustentabilidade do agronegócio da manga nacional.

## **2.2. Aspectos relacionados ao melhoramento genético da manga**

A mangueira ( $2x=2n=40$ ) é uma espécie predominantemente alógama, sendo a taxa de polinização cruzada estimada em aproximadamente 80% (DEGANI et al., 1997; RODRIGUES et al., 2007). Portanto, o modo de reprodução da mangueira caracteriza-se por fecundação cruzada e as populações resultantes de cruzamentos são constituídas por uma mistura de genótipos, os quais, na maioria, são bastante heterozigotos.

Segundo Pinto et al. (2002b), as variedades de mangueira são extremamente heterogêneas e as características agrônômicas são, normalmente, governadas por poligenes, sendo esperado no melhoramento convencional que a eficiência da seleção dessas características quantitativas seja baixa nas primeiras gerações.

Os métodos de melhoramento para a mangueira visam a desenvolver novos cultivares que tenham sabor característico, produtividade melhorada, maior resistência a doenças, cor da epiderme realçada e melhor comportamento pós-colheita. Os critérios de melhoramento também envolvem produção de frutos de tamanho grande, alta porcentagem de polpa quando comparada com a epiderme e a semente, boa relação açúcar/acidez, aroma agradável, longa vida de prateleira, etc. (PANHWAR, 2005). O melhoramento genético da mangueira no Brasil pode contribuir substancialmente para a melhoria das características do fruto em condições ambientais específicas.

No decorrer do cultivo milenar da mangueira, diversos cultivares surgiram da seleção de plantas com base em diferentes características de frutos, como cor, firmeza, sabor, tamanho etc. (RAVISHANKAR et al. 2004). A possibilidade de clonagem por propagação vegetativa em mangueira é uma vantagem que permite a perpetuação de cultivares superiores.

A clonagem por propagação vegetativa possibilitou a expansão global de mangueiras e o cultivo fora do Sudeste da Ásia, centro de origem e diversidade do gênero *Mangifera*. Esse método foi primeiramente aplicado para a clonagem de cultivares monoembriônicas superiores selecionadas, pois muitas informações sobre o cultivo da manga se acumularam durante pelo menos quatro milênios no Sudeste da Ásia (BOMPARD; SCHNELL, 1998; MUKHERJEE, 1998; LITZ, 2009). Contudo, a hibridação natural é a responsável pelas atuais variedades utilizadas comercialmente (TODA FRUTA, 2004).

Em programas de melhoramento de espécies alógamas geralmente realiza-se seleção de genótipos superiores por meio de progênies, isto é, grupos de indivíduos que constituem um conjunto de genes e são mantidos por meio de fecundação cruzada em um mesmo local e época caracterizando uma população. A estrutura das populações alógamas baseia-se nos alelos, que são considerados a unidade básica dos estudos genéticos das populações (BORÉM; MIRANDA, 2009).

A distribuição de cultivares de manga pelo mundo pode ser atribuída à identificação de cultivares melhorados pelo método de hibridações inicialmente na Flórida (EUA) e mais tarde em outras novas áreas de produção, como resultado da polinização aberta e controlada entre germoplasmas locais e introduzidos da Índia e Sudeste da Ásia (LITZ, 2009).

Na maioria das espécies alógamas, os cruzamentos entre indivíduos aparentados, principalmente a autofecundação, causam diminuição do vigor (depressão endogâmica), devido à presença de alelos desfavoráveis em homozigose. No entanto, os cruzamentos entre indivíduos não aparentados proporcionam vigor híbrido (heterose), em virtude da presença de alelos favoráveis na maioria dos locos que controlam a característica em consideração. A depressão endogâmica e a heterose constituem os fenômenos mais importantes que ocorrem em populações alógamas, com grande aplicabilidade prática para o melhoramento de espécies cultivadas (BORÉM; MIRANDA, 2009).

As variações entre cultivares de manga são provenientes de mutações e hibridações, as quais podem ocorrer livremente na natureza. Os tipos desejáveis de frutos são selecionados pelo homem e mantidos em cultivo intensivo. O processo de seleção ganhou grande importância com a introdução da enxertia, cujo método de propagação vegetativa permite manter as qualidades dos cultivares selecionados. (MANICA, 1981).

Sendo assim, o processo seletivo é muito importante para o melhoramento de espécies alógamas, pois é eficiente para reduzir drasticamente os alelos recessivos indesejáveis e fazer com que uma população alcance o limite da resposta quando todos os alelos favoráveis forem fixados (BORÉM; MIRANDA, 2009).

Para selecionar genótipos superiores os melhoristas de mangueira se valem de um recurso convencional muito importante no melhoramento de fruteiras, que é a caracterização morfoagronômica dos genótipos. Esta caracterização fenotípica permite ao melhorista o acesso indireto às informações genéticas dos genótipos. Com a recente aplicação de ferramentas biomoleculares como marcadores de DNA no auxílio da caracterização genética em plantas, o conhecimento da variabilidade genética torna-se mais rápido e mais preciso, já que essas ferramentas acessam diretamente a informação genética.

Vale ressaltar que, para qualquer que seja o objetivo, o melhoramento da mangueira refere-se a um programa de longo prazo, haja vista o grande período juvenil que envolve a cultura (PINTO et al., 2002b). Portanto, a associação dos métodos clássicos de melhoramento genético com as modernas técnicas da biologia molecular poderá acelerar o desenvolvimento de novos cultivares.

### **2.3. Aspectos relacionados à qualidade das mangas**

Estima-se que a manga seja o segundo fruto tropical mais importante no mundo (HOJO, 2005). As excelentes qualidades de sabor e aroma, além de ser ótima fonte de vitamina A e C, fazem desta fruta muito apreciada e de grande importância comercial (SUGAI, 2002).

Outras espécies do gênero *Mangifera* produzem frutos que geralmente têm qualidade inferior, bem como algumas cultivares da espécie *M. indica*, e são

comumente referidas como mangas selvagens (BALLY, 2006; KOSTERMANS; BOMPARD, 1993; MANICA, 1981).

A qualidade da manga exportada ou apresentada nos balcões de atacadistas e varejistas no mercado interno representa o fator principal na escolha do consumidor. Espera-se um fruto de bom tamanho (não exagerado), aparência vistosa e sem machucados (defeitos), de bom sabor (PINTO, 2007). O consumidor não se preocupa se a variedade de manga é mais produtiva ou mais resistente a uma determinada doença, ele está interessado na qualidade do fruto que irá consumir. Rozane et al. (2004) afirmam que no Brasil é bastante comum a falta de preocupação com a qualidade da fruta comercializada, principalmente no quesito aparência, enquanto que nos mercados externos de destino da produção nacional – basicamente o europeu e o norte-americano – a aparência externa da fruta serve como um fator de aproximação, para daí iniciar-se o processo de investigação das qualidades do produto ofertado: sabor, rendimento e maciez. Por isso, a característica de atração da cor do fruto é, atualmente, um dos objetivos mais importantes do melhoramento, a partir da seleção das variedades americanas que possuem a cor vermelha ou a mistura da cor vermelha com a roxa e tons parecidos. Entretanto, este atributo deve estar associado a outras características desejáveis do fruto (TODA FRUTA, 2004).

Existem mais de 1000 variedades de manga nomeadas em todo o mundo (BALLY, 2006), fornecendo grande diversidade de sabores e gostos (MANICA, 1981), e as mais indicadas para o cultivo comercial são as que aliam a alta produtividade a qualidades do fruto como a coloração atraente (de preferência vermelha), tamanho médio de 300 a 500 g, de polpa doce, com porcentagem de açúcares (Brix) superior a 17%, pouca ou nenhuma fibra, além da resistência ao manuseio e ao transporte para mercados distantes (CUNHA et al., 1994; PINTO et al., 2000; TODA FRUTA, 2004).

Os problemas das variedades de manga são principalmente falta de cor, presença de fibra, perecibilidade, suscetibilidade a doenças fúngicas e baixa produtividade. O comércio de manga teve limitações devido à natureza altamente deteriorável constatada, suscetibilidade a doenças, injúrias físicas e mecânicas no fruto após a colheita (PANHWAR, 2005).

O aumento da procura pela manga e a competição no mercado internacional demonstram a grande necessidade de desenvolver uma variedade que possua a maioria dos atributos desejáveis.

#### **2.4. Caracterização da variabilidade genética**

Existem várias fontes de variabilidade genética, entre elas a recombinação gênica, convencionalmente aproveitada em programas de melhoramento, através das hibridações, para combinar alelos provenientes de diferentes genitores, processo altamente frequente com espécies alógamas.

Usualmente, os melhoristas realizam cruzamentos com diversos objetivos, inclusive para explorar a variabilidade genética e desenvolver novos cultivares. Para a maioria das espécies de importância agronômica, a geração de variabilidade é obtida pela hibridação entre genitores contrastantes, processo que consiste na fusão de gametas geneticamente diferentes e que resulta no desenvolvimento de indivíduos híbridos heterozigóticos para um ou mais locos (BORÉM; MIRANDA, 2009). É uma forma de recombinação gênica entre diferentes genótipos, de modo a expor sua a variabilidade genética, bem como transferir caracteres de importância econômica de um cultivar para outro. Geralmente recorre-se, também, ao cruzamento envolvendo dois ou mais cultivares elites para a obtenção de plantas que reúnam novas e melhores características (BONETTI, 1983). Segundo Borém e Miranda (2009), os genitores escolhidos devem ser agronomicamente superiores e adaptados à região de cultivo, pois cruzamentos envolvendo germoplasma exótico ou inadaptado em geral dificultam ou atrasam a obtenção de cultivares superiores.

A busca pelo aumento da variabilidade genética se torna importante e necessária em programas de melhoramento que envolvem hibridações, pois a obtenção de grande variabilidade genética nas plantas permite a imposição de processos seletivos que efetivamente resultem em ganhos genéticos significativos (BERNARDO, 2002). A identificação de recombinantes superiores dentro das populações segregantes requer a utilização de sistemas de análise das características de interesse, o que é um dos maiores desafios para o melhorista.

O cálculo da divergência genética tem sido amplamente utilizado com o objetivo de identificar as combinações híbridas de maior efeito heterótico,

aumentando a possibilidade de encontrar genótipos superiores nas gerações segregantes (CRUZ et al., 2004).

Em manga, a variabilidade genética é comumente investigada através da caracterização morfo-agronômica, embora ferramentas biotecnológicas venham sendo aplicadas também para esta finalidade. Adicionalmente, ao utilizar dados de caracteres físico-químicos, Pradeepkumar et al. (2006) identificaram agrupamentos homogêneos e correlações significativas em manga, evidenciando que as características do fruto permitem distinguir grupos de variedades dessa espécie.

A eficácia da aplicação de marcadores moleculares vem sendo constatada para análises de diversidade genética. Pandit et al. (2007) utilizando marcadores ISSR detectaram doze bandas específicas para seis cultivares de manga, evidenciando-se o potencial de discriminação das variedades em termos de probabilidade de que qualquer fragmento ISSR fosse partilhado por dois diferentes cultivares.

## **2.5. Marcadores moleculares no estudo da variabilidade genética**

Os marcadores moleculares permitem compreender e organizar a variabilidade genética de um programa de melhoramento descartando a influência ambiental conferida em caracteres fenotípicos e oferecendo a possibilidade de planejar os cruzamentos de forma a maximizar as diferenças genéticas, já que algumas das referidas diferenças não podem ser observadas em nível fenotípico (MILACH, 1998).

Dentre as aplicações desses marcadores, a caracterização molecular de variedades pode complementar as informações morfológicas e agronômicas, oferecendo informações mais detalhadas sobre a natureza genética (AMORIM, 2002), e podendo ser executada com tal precisão, que mesmo genótipos extremamente semelhantes sob o ponto de vista morfológico e agronômico podem ser diferenciados. Além disso, essa aplicação proporciona o primeiro passo para o entendimento da biologia e da estrutura de muitas características, especialmente das quantitativas (BORÉM; MIRANDA, 2009).

A maioria das características de importância econômica é controlada por um grande número de genes que se encontra disperso nos cromossomos da espécie.

Cada um dos genes contribui com um pequeno efeito positivo ou negativo para a expressão de uma característica quantitativa, que está sujeita às variações de ambiente. A análise dessas características requer o uso de métodos biométricos e testes extensivos envolvendo locais e anos. O uso de marcadores moleculares permite a identificação e mapeamento dos componentes gênicos das características quantitativas e, conseqüentemente, o acompanhamento da segregação dos genes envolvidos na característica analisada (PATERSON et al., 1998). A idéia básica é procurar associações entre a característica quantitativa de interesse e os marcadores. Se existir uma associação, o marcador deve estar ligado a um gene envolvido na expressão daquela característica e, dessa forma, poderá ser utilizado em seleção indireta.

Além disso, a paternidade de um indivíduo pode ser testada, se conhecido o padrão dos marcadores moleculares dele e dos possíveis genitores. Marcadores moleculares podem, ainda, ser utilizados para estimar a proporção relativa de alogamia e autofecundação de uma espécie (BORÉM; MIRANDA, 2009), como já foi feito em manga, revelando que um percentual de aproximadamente 80% de uma progênie proveniente de polinização cruzada (DEGANI et al., 1993; RODRIGUES et al., 2007).

Como a mangueira é uma fruteira tropical, o isolamento de DNA genômico em suficiente quantidade para uso da tecnologia de marcadores de DNA baseados em PCR muito frequentemente encontra sérios problemas devido à presença de inibidores como polissacarídeos, que comprometem o processamento enzimático do DNA, ou fenólicos, que inibem reações de PCR (RAMIREZ et al., 2004). O protocolo CTAB estabelecido por Doyle e Doyle produziu excelentes moldes para a amplificação PCR de manga (RAMIREZ et al., 2004). Santos et al. (2008) modificaram algumas etapas deste protocolo para extração de DNA em mangueira.

Díaz-Matallana et al., (2009) utilizaram marcadores RAPD na análise de diversidade em seis populações de manga. Após avaliarem 60 *primers*, somente cinco foram selecionados e aplicados nas seis populações. Os autores recomendaram ainda a aplicação de outros marcadores moleculares para a análise da diversidade genética da cultivar de manga 'Hilacha' da Colômbia para complementar as informações obtidas. Porém, Ravishankar et al. (2004) realizaram análises RAPD para avaliar se os tipos mono e poliembriônicos de manga têm uma base comum ou apresentam divergência genética e obtiveram 153 marcadores

polimórficos empregando 19 *primers*. Kumar et al. (2001) estimaram a divergência genética em cultivares comerciais de manga e precisaram fazer uma triagem com 80 *primers* RAPD para obter 139 marcadores, os quais possibilitaram a análise da diversidade genética com eficácia. Estes estudos mostraram que resultados mais expressivos na aplicação de marcadores RAPD em estudos genéticos de mangueira são obtidos quando a base genética é larga. Estes marcadores são amplamente utilizados em análises genéticas pela facilidade, rapidez e baixo custo.

Outro tipo de marcador utilizado para análise das relações genéticas em mangueira é o AFLP, o qual permite estimar a similaridade genética de 105 acessos de diferentes origens geográficas do Banco de Germoplasma da Embrapa Semi-árido, obtendo-se 211 marcadores AFLP com 13 combinações de *primers* e um valor cofenético do fenograma estimado em 0,81 (SANTOS et al., 2008). Estes marcadores, assim como os RAPD, são do tipo dominante, ou seja, não permitem distinguir heterozigotos de homozigotos. Mais recentemente, marcadores do tipo co-dominante agregados à tecnologia da PCR têm permitido análises mais detalhadas, onde é possível analisar diferentes alelos por loco. É o caso dos marcadores microssatélites.

Os marcadores microssatélites, também conhecidos como SSR (*Simple Sequence Repeat*) ou STR (*Short Tandem Repeats*) ou STMS (*Sequence Tagged Microsatellite Site*), são caracterizados por uma sequência de 1 a 6 nucleotídeos, que se repetem de 10 a 60 vezes ou mais raramente até milhares de vezes (SALLES et al., 2003; TÓTH et al., 2000). Como as sequências de DNA que flanqueiam os microssatélites são geralmente conservadas entre os indivíduos de uma mesma espécie, a detecção de polimorfismo alélico pode ser possível via PCR (*Polymerase Chain Reaction*) utilizando-se *primers* específicos para cada loco.

Os microssatélites são marcadores muito polimórficos encontrados nos genomas de animais e plantas. O polimorfismo alélico ocorre em um loco SSR devido a mudanças no número de repetições que surgem provavelmente de “escorregões” na replicação do DNA, recombinação desigual ou alinhamento incorreto das fitas de DNA (SALLES et al., 2003).

A grande limitação do uso de marcadores microssatélites encontra-se na aplicação em espécies nunca antes estudadas, pois é necessário alto investimento inicial para isolar e desenvolver *primers* específicos para cada espécie, sendo esse processo demorado e trabalhoso.



No entanto, uma vez desenvolvidos, os microssatélites podem ser utilizados com a facilidade e a rapidez típica da técnica de PCR e apresentam características genéticas que constituem importantes vantagens em relação a outros tipos de marcadores (RFLP, RAPD, AFLP, etc). Os marcadores microssatélites são altamente polimórficos e informativos; possuem herança codominante, o que permite a discriminação entre homozigotos e heterozigotos; são multialélicos e suficientemente estáveis, com locos frequentemente conservados entre espécies relacionadas; ocorrem abundantemente em genomas eucariotos; necessitam de pequena quantidade de DNA, já que são baseados em PCR; são altamente reproduzíveis; não requerem radioatividade; estão bem dispersos no genoma, em regiões codificadoras e não codificadoras (SALLES et al., 2003). Adicionalmente, marcadores microssatélites em geral são plenamente transferíveis entre indivíduos dentro de uma espécie e frequentemente entre espécies taxonomicamente próximas (BORÉM, 2007).

Segundo Balestre et al. (2008), os marcadores microssatélites agruparam eficientemente grupos heteróticos em estudo visando a estimar as distâncias genéticas entre híbridos resultantes de cruzamentos simples, correlacionando com a capacidade específica de combinação e produtividade de híbridos provenientes de cruzamentos duplos na cultura do milho.

Atualmente existem disponíveis na literatura referências de 50 marcadores microssatélites para manga. Duval et al. (2005) desenvolveram 28 marcadores SSR para manga usando uma biblioteca genômica enriquecida para dinucleotídeos repetidos  $(GA)_n$  e  $(GT)_n$ . Esses mesmos autores utilizaram 19 dos 28 marcadores desenvolvidos para analisar a diversidade da cultura no banco de germoplasma de Guadalupe (FWI), obtendo um número de alelos variando de três a 13 com níveis observados de heterozigosidade variando entre 0,059 e 0,857. Honsho et al. (2005), também com base em biblioteca enriquecida com  $(AC)_n$ , desenvolveram mais seis marcadores microssatélites para mangueira com um número de alelos variando de dois a seis e caracterizaram a diversidade em 36 cultivares coletadas principalmente na Tailândia observando heterozigosidade entre 0 e 0,83. Ainda, 16 marcadores microssatélites foram desenvolvidos por Ukoskit (2007), utilizando a estratégia de PCR com *primers* degenerados ancorados em regiões microssatélites, evidenciando 46 alelos em oito variedades de manga.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1. Material vegetal

Seis variedades de manga (*Mangifera indica* L.) foram analisadas quanto à variabilidade genética com base em marcadores microssatélites: 'Tommy Atkins', 'Haden', 'Palmer', 'Van Dyke', 'Espada' e 'Keitt'. Essas variedades são genitoras de cruzamentos visando ao melhoramento genético da mangueira realizado na Embrapa Semi-árido. Cinco populações segregantes geradas a partir do cruzamento de 'Tommy Atkins' (sempre utilizada como genitor masculino) com as outras cinco variedades mencionadas foram analisadas quanto às variáveis físico-químicas de frutos. Essas populações encontram-se dispostas em experimentos instalados na Estação Experimental de Mandacaru, Juazeiro, BA. Os 51 genótipos derivados desses cruzamentos foram identificados pela letra inicial da variedade utilizada como genitor feminino seguida do número de ordem: H1 a H26; V1 a V9; K1 a K5; P1 a P4; E1 a E7 (Tabela 1). Dez frutos foram coletados aleatoriamente de cada progênie.

A variedade 'Tommy Atkins' foi comum a todos os cruzamentos porque possui a maior participação no volume mundialmente comercializado devido à sua boa produtividade, boa capacidade de adaptação a diferentes ambientes de cultivo, maior tolerância a certas doenças, como oídio, antracnose e verrugose, e resistência ao transporte a longas distâncias, além de apresentar frutos com qualidade razoável e boa conservação pós-colheita (BRASIL, 1999), razões pelas quais é a cultivar predominante nos pomares comerciais de manga no Brasil.

**Tabela 1.** Híbridos de *Mangifera indica* provenientes do cruzamento da variedade ‘Tommy Atkins’ com cinco diferentes variedades.

Cruzamentos				
H x TA*	V x TA*	K x TA*	P x TA*	E x TA*
H1	V1	K1	P1	E1
H2	V2	K2	P2	E2
H3	V3	K3	P3	E3
H4	V4	K4	P4	E4
H5	V5	K5		E5
H6	V6			E6
H7	V7			E7
H8	V8			
H9	V9			
H10	V9			
H11	V10			
H12				
H13				
H14				
H15				
H16				
H17				
H18				
H19				
H20				
H21				
H22				
H23				
H24				
H25				
H26				

\*H: Haden; V: Van Dyke; K: keitt; P: Palmer; E: Espada; TA: Tommy Atkins.

As variedades que cruzaram com a ‘Tommy Atkins’ (‘Haden’, ‘Van Dyke’, ‘Keitt’, ‘Palmer’ e ‘Espada’) são consideradas mais saborosas por possuírem teores de sólidos solúveis totais mais elevados (COSTA; SANTOS, 2004; PINTO et al., 2000), porém nenhuma delas reúne atributos preferíveis quanto à produção, qualidade dos frutos, pós-colheita e resistência a doenças. As variedades americanas são do tipo monoembriônico, enquanto a variedade brasileira ‘Espada’, utilizada neste estudo, é do tipo poliembriônico. Vale ressaltar que as variedades ‘Tommy Atkins’, ‘Haden’ e ‘Keitt’ são variedades aparentadas (DONADIO, 1996).

### 3.2. Análises moleculares

Amostras foliares foram coletadas individualmente em quatro exemplares de cada variedade, liofilizadas e submetidas à extração de DNA para a análise com

marcadores microssatélites. O DNA foi extraído de acordo com o protocolo descrito por Doyle e Doyle (1990) com modificações relatadas por Santos *et al.* (2008). Alíquotas do volume total do DNA extraído foram quantificadas por comparação visual da intensidade da fluorescência das bandas geradas de uma série de concentrações conhecidas de DNA fago  $\lambda$  (50, 100, 200 e 300 ng), em géis de agarose a 0,8% utilizando cuba de eletroforese horizontal. Posteriormente, o DNA foi diluído a 5 ng/ $\mu$ L para as reações de SSR.

Cinquenta *primers* SSR desenvolvidos para manga (Duval *et al.*, 2005; Honsho *et al.*, 2005; Ukoskit, 2007) foram testados para amplificação do DNA das seis variedades genitoras. As reações foram realizadas num total de 13  $\mu$ L, com 15 ng de DNA genômico, 2,5  $\mu$ L de tampão de reação 5x (pH 8,5), 2,96 mmol.L<sup>-1</sup> de MgCl<sub>2</sub>, 6 mmol.L<sup>-1</sup> de dNTP, 1 unidade de Taq-DNA polimerase (Promega), 20 mmol.L<sup>-1</sup> de *primers* específicos F e R e 5,07  $\mu$ L de água milli-Q. As amplificações foram realizadas em termociclador (Applied Biosystems) programado para desnaturação inicial do DNA a 94°C por 4 minutos, seguindo-se 30 ciclos com a temperatura de desnaturação a 94°C por 45 segundos, temperatura de anelamento de acordo com cada *primer* por 1 minuto e de extensão a 72°C por 1 minuto. Seguiu-se extensão final a 72°C por 8 minutos.

Os produtos amplificados foram visualizados em géis de agarose (3%) corados com brometo de etídio e submetidos a uma corrente elétrica de 90 volts por 3 horas, para posterior eletroforese em gel de poliacrilamida. Os respectivos tamanhos foram estimados através da comparação com um marcador de peso molecular de 100pb (promega). Somente aqueles produtos de amplificação que se mostraram suficientemente visíveis e fortes no gel de agarose foram resolvidos sob condições desnaturantes em gel de poliacrilamida (5%), empregando-se a metodologia proposta por Creste *et al.* (2001). Os géis de poliacrilamida foram analisados de acordo com a visualização das bandas conferidas por seqüências de DNA, a partir da mobilidade dos fragmentos produzidos durante a corrida. As bandas obtidas foram interpretadas como alelos múltiplos por loco anotando-se o tamanho do alelo com base no marcador de peso molecular utilizado (10 pb).

### **3.3. Análise das características físico-químicas de frutos**

Os frutos foram analisados no Laboratório de Patologia Pós-Colheita e Qualidade Mercadológica da Embrapa Semi-Árido considerando-se as seguintes variáveis físico-químicas: peso médio dos frutos (PMF); comprimento médio dos frutos (CMF); largura média dos frutos (LMF); coloração da casca dos frutos (CCF); coloração da polpa dos frutos (CPF); sólidos solúveis totais (SST); acidez total titulável (ATT); relação SST/ATT e potencial hidrogeniônico (pH).

Os dados foram coletados da seguinte forma: o peso foi determinado com auxílio de uma balança digital, o comprimento e a largura dos frutos foram medidos com auxílio de uma régua de 30 cm; a coloração da casca foi analisada adotando-se a escala de Blush, que corresponde a uma faixa percentual da cor vermelha: 1-0%; 2->0-25%; 3->25-50%; 4->50-75%; e 5->75-100% (Amorim, 2002); essa mesma escala foi utilizada para analisar a coloração da polpa, avaliando-se a intensidade da cor amarela, o teor de sólidos solúveis totais foi determinado por refratometria, conforme normas da Association of Official Analytical Chemists - AOAC (1992), e os resultados expressos em °Brix, realizando-se 2 repetições para cada fruto; a acidez total titulável (ATT) da polpa dos frutos foi determinada pelo método de titulometria com hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1N, conforme a Association of Official Analytical Chemists – AOAC (1992), e os resultados expressos em gramas de ácido cítrico por 100 gramas de polpa; a determinação do pH foi realizada com o mesmo material utilizado na obtenção da ATT onde, antes da adição do NaOH, fez-se uma leitura com um pHmetro, segundo técnica da AOAC (1992), mantendo-se a solução homogeneizada e realizando-se 2 repetições para cada fruto; a relação entre o teor de sólidos solúveis e a acidez titulável foi determinada pelo quociente entre essas duas características. Os resultados foram expressos por meio do valor absoluto encontrado.

### **3.4. Análises estatísticas**

Na caracterização da variabilidade genética dos genitores em estudo foram calculados o número de alelos por loco e a porcentagem de locos polimórficos e a porcentagem de heterozigose de cada variedade. Além disso, foram estimados os

valores das distâncias genéticas entre as variedades, com auxílio do *software* Genes (CRUZ, 2007), usando a seguinte fórmula:

Índice de similaridade (IS) =  $(N + 2M) / 2(D + M)$ , em que:

N = soma dos alelos comuns considerando todos os locos

D = número total de locos

M = número de marcadores monomórficos homozigotos analisados

Sendo a dissimilaridade obtida pelo complemento do IS: ID =  $1 - [(N + 2M) / 2(D + M)]$

Adicionalmente, um dendrograma foi gerado usando o método hierárquico aglomerativo de ligação média não ponderada (UPGMA). O coeficiente de correlação cofenética (CCC), distorção e estresse foram calculados, a fim de verificar a consistência do agrupamento.

Para as variáveis físico-químicas, o teste de Lilliefors foi utilizado visando a verificar a normalidade dos dados métricos, adotando-se o teste Box e Cox (1964) para determinação da melhor estratégia de transformação e normalização dos dados. Os valores de significância dos coeficientes de correlação entre as variáveis foram ordenados segundo o teste “t” ( $\alpha = 0,05$ ). Todas essas análises foram realizadas com auxílio do *software* BioEstat 5.0 (AYRES et al., 2005).

Os dados das variáveis físico-químicas foram submetidos às análises de variância (ANOVA) para constatar a existência de variação entre os cruzamentos, tendo-se considerado o modelo inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (cruzamentos), adotando-se o teste de Kruskal-Wallis. As médias das oito variáveis para cada um dos cruzamentos foram comparadas pelo teste Student-Newman-Keuls, com o auxílio do *software* BioEstat 5.0 (AYRES et al., 2005). A análise multivariada foi realizada pelo método UPGMA, com base na distância Euclidiana média, obtida com auxílio do *software* Genes (CRUZ, 2007). A eficiência do método de agrupamento foi avaliada através do coeficiente de correlação cofenética, do estresse e da distorção, observando a concordância entre a matriz de dissimilaridade original e o dendrograma.

Para estabelecer a classificação dos frutos das progênies com relação ao tamanho baseado no peso, foi utilizada a escala sugerida por Donadio et al. (1982), em que: frutos pequenos (< 250g); médios (250 a 350g); grandes (350 a 500g); muito grandes (> 500g).

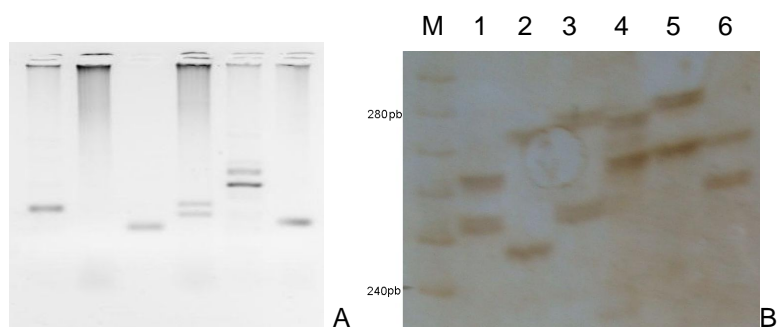
## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1. Análises SSR

É importante que a variabilidade genética seja avaliada quando se deseja obter um cultivar que reúna o maior número possível de características de interesse comercial. Para isso, os programas de melhoramento podem partir de estratégias que envolvem a geração de híbridos provenientes de cruzamentos de diversas variedades comerciais. Considerando-se que plantas cultivadas possuem base genética estreita, supõe-se que exista baixo polimorfismo entre as variedades comerciais de manga. Desta forma, as principais variedades usadas para a produção de híbridos disponíveis na Embrapa Semiárido foram analisadas com base em marcadores SSR. Dos 50 marcadores SSR testados para amplificação do DNA das seis variedades de manga genitoras, 23 foram selecionados para este estudo porque produziram bandas evidentes no gel de agarose (Figura 1A), comprovando a amplificação com os *primers* microssatélites nessas variedades. Os produtos de amplificação separados em gel de poliacrilamida 5% possibilitaram detectar polimorfismos entre as variedades (Figura 1B).

As seis variedades de manga analisadas apresentaram 49 alelos distribuídos em 23 locos SSR (Tabela 1). Dentre esses locos, 17 (73,91%) foram polimórficos, evidenciando a eficiência da técnica na detecção da variabilidade genética presente entre as seis variedades de manga utilizadas neste trabalho. O número de alelos identificados por loco variou de 1 a 5, sendo que o maior número de alelos foi observado para o loco MIAC-2/AB190345. Esse baixo número de alelos por loco pode dever-se ao fato de que geralmente espécies cultivadas introduzidas possuem base genética estreita (MIRANDA *et al.*, 2007) e ao número de variedades analisadas, que é pouco para amostrar grande número de alelos. Viruel *et al.* (2005)

calcularam uma média de 5,3 alelos por loco ao analisarem 28 genótipos de manga com marcadores SSR, sendo que menos da metade eram variedades americanas. Evidentemente o fato de usar um maior número de genótipos implica numa maior possibilidade de encontrar um maior número de alelos por loco. Em outro estudo de diversidade genética com Manga, Gálvez-López *et al.* (2009) identificaram 25,16 alelos por loco em média analisando 16 populações de manga do México. No presente estudo, a maioria das variedades é de procedência americana resultantes de melhoramento genético, sendo que metade é aparentada, justificando o baixo número de alelos por loco. Vale ressaltar que nenhum dos *primers* utilizados foram desenvolvidos com base em alguma das variedades utilizadas neste estudo.



**Figura 1.** Visualização dos produtos de amplificação de marcadores SSR com diferentes variedades de manga. A – Amplificação em gel de agarose (3%) do DNA da variedade ‘Tommy Atkins’ com os *primers* MIAC-2/AB190345, MIAC-4/AB190347, MIAC-5/AB190348, MITG436-1, MITG436-2, MICA231 -1; B – Polimorfismo gerado com o *primer* MIAC-2/AB190345 nas variedades ‘Van Dyke’ (1); ‘Espada’ (2); ‘Keitt’ (3); ‘Palmer’ (4); ‘Haden’ (5); ‘Tommy Atkins’ (6), evidenciado em gel de poliacrilamida (5%).

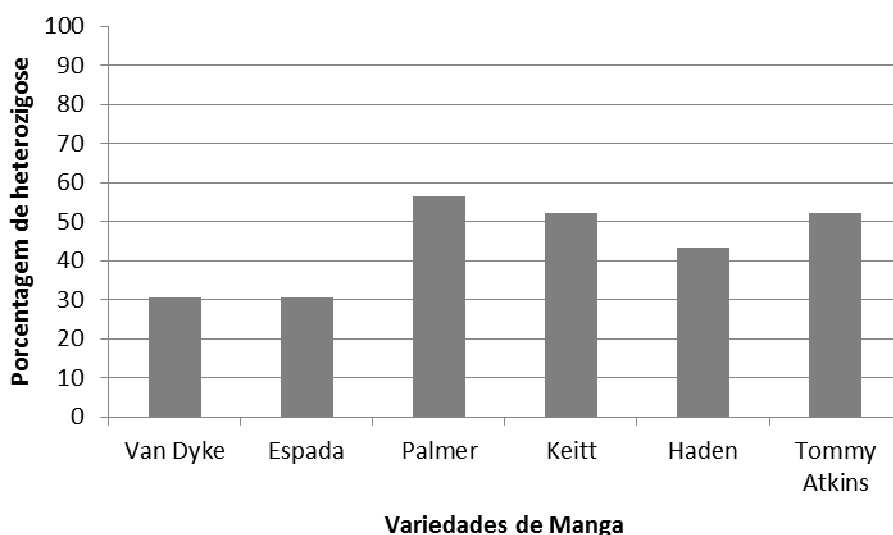
**Tabela 2.** Número de alelos (NA) identificados por loco microssatélite em seis variedades de manga (*Mangifera indica* L.): ‘Tommy Atkins’, ‘Haden’, ‘Palmer’, ‘Van Dyke’, ‘Espada’ e ‘Keitt’.

Loco	NA	Loco	NA
mMiCIR001 <sup>a</sup>	2	MIAC-4/AB190347 <sup>b</sup>	2
mMiCIR002 <sup>a</sup>	1	MIAC-5/AB190348 <sup>b</sup>	2
mMiCIR003 <sup>a</sup>	2	MITG436-1 <sup>c</sup>	2
mMiCIR005 <sup>a</sup>	3	MITG436-2 <sup>c</sup>	2
mMiCIR008 <sup>a</sup>	2	MICA231 -1 <sup>c</sup>	3
mMiCIR012 <sup>a</sup>	1	MICA235 <sup>c</sup>	3
mMiCIR016 <sup>a</sup>	2	MIGA 179 <sup>c</sup>	2
mMiCIR020 <sup>a</sup>	3	MIGA203 <sup>c</sup>	1
mMiCIR021 <sup>a</sup>	2	MIGA224 <sup>c</sup>	1
mMiCIR028 <sup>a</sup>	3	MIGA326 <sup>c</sup>	2
mMiCIR036 <sup>a</sup>	2	MITCI38 <sup>c</sup>	1
MIAC-2/AB190345 <sup>b</sup>	5	Média	2,13

<sup>a</sup> Duval *et al.*, 2005; <sup>b</sup> Honsho *et al.*, 2005; <sup>c</sup> Ukoskit, 2007.



O percentual de heterozigose calculado com base nos dados SSR para as variedades de *M. indica* foi, em média, 44,20% (variando de 30,43% a 56,52%). Para cruzamentos que visam manter muitas das características de interesse comercial numa cultivar não é desejável um alto percentual de heterozigose, pois isso aumenta a probabilidade de gerar recombinantes diferentes do desejado. Somente com este estudo, não é possível afirmar se os locos SSR analisados estão ligados às características de interesse no melhoramento genético da cultura, mas a dificuldade para manipular a variabilidade genética em manga já é esperada devido à sua natureza predominantemente alógama. Por outro lado, a heterozigose das variedades é desejável na busca de características contrastantes para etapas iniciais do melhoramento e construção de mapas genéticos.



**Figura 2.** Distribuição do percentual de heterozigose apresentado para seis variedades comerciais de manga com base em 23 locos microssatélites.

Os valores das distâncias genéticas calculadas entre as seis variedades de manga com base nos marcadores SSR variaram de 0,34 a 0,91 (Tabela 2). A menor distância observada ocorreu entre as variedades ‘Palmer’ e ‘Keitt’ e a maior distância entre ‘Haden e ‘Espada’. Estas variedades apresentaram as maiores distâncias médias com as demais variedades (0,81), enquanto a distância média das demais variedades entre si foi de 0,68. Esses dados refletem a história de melhoramento e seleção das variedades estudadas, na qual a ‘Espada’ não é muito relacionada com as demais, ao passo que a ‘Haden’ foi a primeira cultivar originada no programa de melhoramento genético da cultura desenvolvido na Flórida (EUA), o qual deu origem

as outras cultivares utilizadas neste estudo (RAVISHANKAR et al., 2004; PINTO et al.; 2002a).

Em relação à variedade ‘Tommy Atkins’, a menor distância foi com a ‘Van Dyke’ (0,39). Portanto, espera-se que cruzamentos entre estas variedades resultem num menor grau de variabilidade genética comparando-se com as demais variedades que cruzaram com a ‘Tommy Atkins’ neste estudo. Essa relação próxima da ‘Tommy Atkins’ com a ‘Van Dyke’ também foi verificada por Viruel et al. (2005) ao avaliar a diversidade de 28 genótipos cultivados na Espanha usando marcadores SSR. Contudo, para a maioria das combinações de cruzamentos com a variedade ‘Tommy Atkins’ observa-se um grande potencial de geração de maior número de recombinantes diversos, pois os valores de distâncias genéticas se apresentaram iguais ou acima da média geral (0,57), exceto na combinação com a variedade ‘Van Dyke’.

**Tabela 3.** Dissimilaridades genéticas entre seis variedades de manga.

	Van Dyke	Espada	Palmer	Keitt	Haden	Tommy Atkins
Van Dyke	0	0,57	0,48	0,61	0,74	0,39
Espada		0	0,57	0,57	0,91	0,61
Palmer			0	0,35	0,43	0,57
Keitt				0	0,52	0,70
Haden					0	0,70
Tommy Atkins						0

Com aproximadamente metade das marcas microssatélites em heterozigose para cada variedade e cerca de 70% de locos polimórficos evidencia-se o bom potencial desses marcadores para auxiliar no melhoramento genético da mangueira. Os valores das distâncias genéticas obtidas com base em marcadores SSR podem auxiliar no planejamento de seleção recorrente, bem como na escolha de populações de mapeamento genético. Entretanto, tratando-se da seleção visando à obtenção de genótipos superiores quanto à qualidade dos frutos, a caracterização físico-química é indispensável porque atualmente ainda não é possível realizar a seleção assistida por marcadores (SAM). Segundo Borém e Caixeta (2006) a utilização desses marcadores de DNA no mapeamento genético poderá revelar marcadores ligados às características de interesse, visando à SAM. Desta forma, os



observada entre esses cultivares superiores pode ser explicada pela heterogeneidade que a natureza alógama dessa espécie produz (PINTO et al., 2002b; FANG et al., 2000) e, ainda, pelo elevado conteúdo de informação de polimorfismo característico dos marcadores microssatélites (SALLES et al., 2003, TÓTH et al., 2000).

O dendrograma das distâncias genéticas baseado em dados SSR (Figura 2) teve seu valor cofenético calculado em 0,72. Segundo Sokal e Rohlf (1962) somente valores de correlação cofenética superiores a 0,80 indicam bom ajuste entre as matrizes originais e as distâncias gráficas. No entanto, Cerqueira-Silva et al. (2009) obtiveram valores de correlação cofenética de até 0,75 para o método UPGMA ao comparar diversos coeficientes de similaridade com base em marcadores RAPD e descritores físico-químicos para maracujá, indicando este método como o mais apropriado para agrupar os genótipos da referida cultura, mesmo com valor de correlação cofenética inferior a 0,80. Porém, numa comparação similar utilizando marcadores microssatélites no estudo da diversidade de linhagens de milho, Balestre et al. (2008) obtiveram valores de correlação cofenética superiores a 0,80 para todos os métodos de agrupamento avaliados.

Os parâmetros utilizados para estimar a qualidade do ajuste entre a distância genética original e a obtida na projeção gráfica do dendrograma são a distorção e o estresse, que determinam a qualidade do ajuste da projeção gráfica. No presente estudo, o valor de estresse para o referido dendrograma foi regular (16,13) e a distorção foi baixa (2,60), segundo a classificação proposta por Kruskal (1964), o que comprova que a representação das distâncias genéticas foi acurada. Nas análises de Balestre et al. (2008), todos os coeficientes de similaridade apresentaram valores insatisfatórios para o estresse e as distorções (entre 25,02 e 73,25).

Portanto, somente uma investigação para comparar valores de correlação cofenética e a influência no agrupamento de genótipos de mangueira permite inferir sobre a adequação dos valores encontrados neste estudo.

A diversidade genética entre o grupo de genitores foi avaliada visando à identificação dos parentais mais divergentes para a indicação de combinações híbridas de maior potencial heterótico, já que quanto maior a diversidade genética entre os genitores, maior é a possibilidade de geração de genótipos superiores (CRUZ et al., 2004). Sugere-se que, havendo pretensão no aumento do tamanho

das populações segregantes existentes, que isso ocorra nos cruzamentos da 'Tommy Atkins' com a 'Keitt' e a 'Haden', os quais também têm grande potencial para estudos de mapeamento genético. Além disso, novas combinações parentais podem ser identificadas com base nas distâncias genéticas observadas entre a variedade 'Haden' e as variedades 'Van Dyke' e 'Espada'.

#### **4.2. Análises das características físico-químicas dos frutos**

Apenas a variável Acidez Total Titulável apresentou distribuição normal em nível de 1% de probabilidade, pelo teste de Lilliefors. Os dados das demais variáveis foram transformados mediante a raiz quadrada, fator indicado pela técnica de Box e Cox (1964). Obteve-se normalidade para os dados das variáveis 'Comprimento Médio dos Frutos' e 'Sólidos Solúveis Totais'. No entanto, as variáveis 'Peso Médio dos Frutos', 'Largura Média dos Frutos' e 'Potencial Hidrogeniônico' permaneceram sem apresentar distribuição normal. Portanto, para as análises univariadas, foram adotados métodos não-paramétricos, como o coeficiente de correlação de Spearman e o teste de Kruskal-Wallis.

Os resultados da análise de variância das características analisadas revelaram pelo teste H ( $p \leq 0,02$ ) que, para a maioria dos caracteres, existem diferenças significativas entre os cruzamentos, exceto para Peso Médio dos Frutos, Largura Média dos Frutos e Potencial Hidrogeniônico (Tabela 4). Isso indica que houve efeito significativo na geração de variabilidade a partir dos cruzamentos realizados e que estes são úteis para o programa de melhoramento da cultura.

Enquanto a comparação dos valores médios foi utilizada para caracterizar a variabilidade entre os cruzamentos, os coeficientes de variação (CV) das variáveis analisadas foram calculados para caracterizar a variabilidade dentro dos cruzamentos. Eles variaram de 6,11% para o Comprimento Médio dos Frutos a 119,15% para a relação Sólidos Solúveis Totais/Acidez Total Titulável. Os CV's das diferentes variáveis foram maiores nos cruzamentos 'Haden' x 'Tommy Atkins' e 'Espada' x 'Tommy Atkins' e menores nos demais, exceto aqueles das variáveis Comprimento Médio dos Frutos e relação Sólidos Solúveis Totais/Acidez Total Titulável, que também foram mais elevados para os cruzamentos 'Palmer' x 'Tommy Atkins' e 'Keitt' x 'Tommy Atkins', respectivamente (Tabela 5).

**Tabela 4.** Análise de variância e comparação de médias das variáveis físico-químicas de frutos de manga (*Mangifera indica* L.) de 51 genótipos derivados dos cruzamentos da variedade ‘Tommy Atkins’ com cinco diferentes variedades.

Cruzamentos <sup>a</sup>	Variáveis físico-químicas <sup>b</sup>								
	PMF	CMF	LMF	CCF	CPF	SST	ATT	SST/AAT	pH
H x TA	350,39a	10,48bc	7,76a	4,57a	4,48ab	15,69a	0,41a	83,24a	4,03a
VD x TA	306,41a	9,65c	8,13a	5,00a	5,00a	16,73a	0,28a	71,08a	4,22a
K x TA	410,14a	11,59ab	8,40a	5,00a	5,00a	15,44a	0,51ab	41,44ab	3,67a
P x TA	398,51a	12,50a	7,54a	5,00a	3,92ab	16,45a	0,26a	89,83a	4,20a
E x TA	293,57a	10,79abc	7,43a	2,17b	3,05b	10,60b	1,48b	15,99b	3,33a
Valor H (p)	6,76 (0,14)	11,69 (0,02)	4,81 (0,30)	29,9 (0,00)	14,70 (0,00)	15,91 (0,00)	13,11 (0,01)	15,57 (0,00)	8,87 (0,06)

<sup>1</sup>médias seguidas da mesma letra, não são significativamente diferentes ao nível de probabilidade de 5% pelo teste de Student-Newman-Keuls.

<sup>a</sup>Cruzamentos: H (Haden), VD (Van Dyke), K (Keitt), P (Palmer), E (Espada), TA (Tommy Atkins).

<sup>b</sup>Variáveis: PMF (Peso Médio dos Frutos), CCF (Coloração da Casca dos Frutos), CPF (Coloração da Polpa dos Frutos), CMF (Comprimento Médio dos Frutos), LMF (Largura Média dos Frutos), SST (Sólidos Solúveis Totais), ATT (Acidez Total Titulável), pH (Potencial Hidrogeniônico).

**Tabela 6.** Coeficientes de variação das variáveis físico-químicas de frutos de manga (*Mangifera indica* L.) de 51 genótipos derivados dos cruzamentos da variedade ‘Tommy Atkins’ com cinco diferentes variedades.

Cruzamento	Variáveis físico-químicas								
	PMF	CMF	LMF	CCF	CPF	SST	ATT	SST/AAT	pH
H x TA	32,44	14,36	16,19	19,91	19,84	20,12	20,12	64,15	19,32
VD x TA	21,56	11,72	8,80	0,00	0,00	9,80	9,80	43,34	8,93
K x TA	20,44	6,11	8,74	0,00	0,00	13,93	13,93	69,21	10,44
P x TA	18,63	10,69	7,16	0,00	36,34	8,03	8,03	61,96	9,62
E x TA	37,80	19,75	14,01	30,80	58,39	18,95	18,95	119,15	21,27

<sup>a</sup>Cruzamentos: H (Haden), VD (Van Dyke), K (Keitt), P (Palmer), E (Espada), TA (Tommy Atkins).

<sup>b</sup>Variáveis: PMF (Peso Médio dos Frutos), CCF (Coloração da Casca dos Frutos), CPF (Coloração da Polpa dos Frutos), CMF (Comprimento Médio dos Frutos), LMF (Largura Média dos Frutos), SST (Sólidos Solúveis Totais), ATT (Acidez Total Titulável), pH (Potencial Hidrogeniônico).

Analisando-se os coeficientes de variação de acordo com Gomes (1990), que os considera como de baixa dispersão, quando são inferiores a 10%; de média dispersão, quando estão entre 10 e 20%; de alta dispersão, quando estão entre 20 e 30% e de dispersão muito alta, quando são superiores a 30%, observa-se que, dentre todos os cruzamentos, o da ‘Tommy Atkins’ com ‘Espada’ revelou a mais alta dispersão e, portanto, a maior variabilidade gerada para a quase totalidade das

variáveis estudadas. Esta variabilidade pode ser explicada pela distinta origem genética de ‘Tommy Atkins’ e ‘Espada’, além do fato de a variedade ‘Espada’ ser poliembriônica, enquanto as demais variedades estudadas são monoembriônicas. Os tipos mono e poliembriônicos têm origem em diferentes regiões geográficas e, na maioria das vezes, apresentam várias características contrastantes (RAVISHANKAR et al., 2004). Portanto espera-se que haja uma maior distância genética entre variedades de tipos distintos.

A homogeneidade nos dados foi observada nas populações segregantes analisadas dos cruzamentos ‘Van Dyke’ x ‘Tommy Atkins’, ‘Keitt’ x ‘Tommy Atkins’ e ‘Palmer’ x ‘Tommy Atkins’ para a variável Coloração da Casca dos Frutos e dos cruzamentos ‘Van Dyke’ x ‘Tommy Atkins’ e ‘Keitt’ x ‘Tommy Atkins’ para a variável Comprimento da Polpa dos Frutos, demonstrando que esses cruzamentos não produziram genótipos contrastantes para essas variáveis na geração F1 analisada.

**Tabela 7.** Classificação dos frutos com base nos critérios de tamanho do fruto das variedades e dos 51 genótipos (dados deste trabalho).

Genótipo	Varição de peso (g)*	Classificação dos frutos
Variedade		
Tommy Atkins (TA)	713*	Muito grandes
Haden (H)	468,8*	Grandes
Keitt (K)	858*	Muito grandes
Palmer (P)	370-430*	Grandes
Van Dyke (VD)	465*	Grandes
Espada (E)	300*	Médios
Cruzamento		
H x TA	136-621**	Pequenos - muito grandes
KxTA	298-523**	Médios - muito grandes
PxTA	319-496**	Grandes
VDxTA	204-407**	Pequenos – grandes
ExTA	136-429**	Pequenos – grandes

\* Fonte: dados de Nunes et al. (2001), Manica (2001), Costa; Santos, 2004; \*\*Dados do presente trabalho.

Não houve diferenças significativas para a variável Peso Médio dos Frutos. Contudo, aplicando-se a classificação estabelecida por Donadio et al. (1982) para mangas em relação ao peso médio dos frutos (Tabela 6), observa-se que os

cruzamentos da variedade 'Tommy Atkins' com a 'Haden', 'Keitt' e 'Van Dyke' estudados no presente trabalho ampliaram a variabilidade para esse caráter. A cultivar 'Tommy Atkins' possui frutos com tamanho classificados entre grandes a muito grandes. No seu cruzamento com 'Haden' os frutos variaram de pequenos a muito grandes, enquanto os frutos da cultivar 'Haden' geralmente variam de médios a muito grandes. No cruzamento entre 'Tommy Atkins' e 'Keitt', os frutos variaram de médios a muito grandes, enquanto a 'Keitt' produz frutos que variam de grandes a muito grandes. E no cruzamento entre 'Tommy Atkins' e 'Van Dyke', os frutos variaram de pequenos a grandes, enquanto a 'Van Dyke' caracteriza-se por produzir frutos de médios a grandes. O cruzamento da 'Tommy Atkins' com a 'Espada' apresentou uma média menor para o peso dos frutos, mas, apesar de não ter havido diferenças significativas entre os cruzamentos estudados, vale ressaltar que as médias da variável tenderam a apresentar variação significativa, com valor p baixo (0,14). A 'Espada' é uma variedade de frutos pequenos e seu cruzamento com a 'Tommy Atkins' apresentou o maior coeficiente de variação para esta variável, dentre os cruzamentos analisados, ou seja, há uma variabilidade na população segregante que pode ser explorada visando à seleção dos genótipos com a média de peso dos frutos desejável.

A preferência do consumidor brasileiro não é regulada pelo tamanho do fruto (BOTREL, 1994), mas a manga para exportação deve apresentar peso entre 250 e 600 gramas por fruto para o mercado dos EUA (PIZZOL et al., 1998). Na Europa, a preferência é por frutos entre 300 e 450 gramas, o que, em caixa de 4 kg representa de 9 a 14 frutos (COMUNIDAD ANDINA, 2001). Portanto, todos os cruzamentos geraram variabilidade de genótipos com potencial para atender tanto o mercado interno quanto o externo, no que se diz respeito ao peso dos frutos.

Quanto à coloração da casca somente o cruzamento da variedade 'Tommy Atkins' com a 'Espada' não apresentou efeito satisfatório (casca avermelhada). A coloração da casca verde-amarelada característica da variedade 'Espada' não é desejável para um cultivar superior, sendo preferível uma coloração avermelhada (média próxima de 5,0). Porém esse cruzamento apresentou um coeficiente de variação bastante alto (30,80), sugerindo que é possível obter recombinantes desejáveis.

Em quase todos os cruzamentos, os teores de SST dos frutos foram, em média, menores que os relatados na literatura para os genitores femininos, mas



maiores que os relatados para o progenitor masculino (BRUNINI et al., 2002). A porcentagem de sólidos solúveis para a variedade 'Tommy Atkins' é considerada baixa (13,4), comparando-se com a 'Haden' (17,2), a 'Keitt' (21,8), a 'Palmer' (17,9), a 'Van Dyke' (20,2) e a 'Espada' (17,9) (CARVALHO et al., 2004; AMORIM et al., 2008; MAIA et al., 1986; SILVA et al., 2009), Contudo nos cruzamentos entre variedades americanas as médias foram superiores em relação ao progenitor masculino empregado (a 'Tommy Atkins'), indicando um ganho para o melhoramento genético que visa a conservar as qualidades desta cultivar, agregando os atributos desejáveis das outras variedades. Teores de Sólidos Solúveis Totais similares ao deste estudo foram obtidos por Pinto (1995) em híbridos provenientes dos cruzamentos da cultivar 'Tommy Atkins' com a 'Imperial' e a 'Maçã', para os quais encontrou valores médios de 16,0 e 15,0, respectivamente.

Verificou-se que somente o cruzamento com a 'Espada' apresentou resultados, em média, inferiores na variável Sólidos Solúveis Totais. Contudo, assim como foi observado para a coloração da casca, o coeficiente de variação dessa variável para esse cruzamento foi um dos mais elevados, permitindo assim a exploração na busca e na seleção de genótipos superiores.

A Acidez Total Titulável da variedade 'Tommy Atkins' (0,35) não é muito elevada, o que não compromete o sabor do fruto, embora ele não seja dos mais doces. As variedades 'Haden', 'Keitt', 'Van Dyke', 'Palmer' e 'Espada' apresentam, em média, valores de Acidez Total Titulável de 0,45; 0,95; 0,44; 0,35 e 0,26, respectivamente (CARVALHO et al., 2004; AMORIM et al., 2008; SILVA et al., 2009). No resultado dos cruzamentos da variedade 'Tommy Atkins' com estas variedades houve efeito satisfatório para a maioria dos referidos cruzamentos, nos quais se obteve uma diminuição dos valores em relação ao progenitor feminino. No entanto, o valor médio da variável Acidez Total Titulável no cruzamento com a 'Espada' foi extremamente alto, o que é indesejável para o melhoramento genético. Em cruzamentos da variedade 'Tommy Atkins' com a 'Imperial' e a 'Maçã', Pinto (1995) encontrou valores de 0,32 e 0,30, respectivamente.

A relação entre os conteúdos de sólidos solúveis totais e a acidez total titulável é um dos índices mais utilizados para determinar a palatabilidade dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005) e vem sendo utilizada para avaliar a qualidade dos frutos de manga (RAMOS et al., 2001). O aumento do teor de sólidos solúveis e a redução da acidez total titulável elevam a relação Sólidos Solúveis Totais / Acidez

Total Titulável, promovendo sabor adocicado aos frutos. Portanto, quanto maior esse índice, mais saboroso é o fruto.

Sendo assim, constata-se que a maioria dos cruzamentos apresentou índices elevados para esta variável, com exceção do cruzamento da 'Tommy Atkins' com a 'Espada' que diferiu significativamente dos demais, certamente pelo alto nível de Acidez Total Titulável e pelo baixo teor de Sólidos Solúveis Totais. Pinto (1995) relata valores de 50 para os cruzamentos da 'Tommy Atkins' com a 'Imperial' e 'Maçã'.

Os teores de Sólidos Solúveis Totais encontrados nos cruzamentos estudados não foram elevados como normalmente os encontrados para a maioria das variedades empregadas nos referidos cruzamentos, excetuando-se os da 'Tommy Atkins', progenitor masculino. No entanto, a baixa acidez proporcionou um bom sabor para os frutos analisados em virtude da relação Sólidos Solúveis Totais / Acidez Total Titulável.

Os valores apresentados para a variável Potencial Hidrogeniônico no presente estudo não apresentaram diferenças estatísticas e estão de acordo com os apresentados pela maioria das cultivares de manga, isto é, abaixo de 4,5 (BERNIZ, 1984).

Diante do exposto, considera-se que os cruzamentos entre as variedades americanas, algumas das quais aparentadas, geraram recombinantes desejáveis para o melhoramento genético em relação às variáveis físico-químicas dos frutos. Vale ressaltar que algumas das variedades cruzadas são aparentadas. Ganhos genéticos não são esperados para cruzamentos entre variedades aparentadas em mangueira, em decorrência da sua natureza alógama e de uma provável depressão endogâmica. Isso é uma possível explicação para a obtenção de teores de Sólidos Solúveis Totais menos elevados nos cruzamentos comparando-se com o valor médio descrito na literatura para a maioria dos genitores. No entanto, os resultados médios encontrados para maioria dos cruzamentos são satisfatórios quanto às variáveis relacionadas à qualidade dos frutos analisadas neste estudo e constata a utilidade desses cruzamentos para o programa de melhoramento genético. Até mesmo o cruzamento da 'Espada' com 'Tommy Atkins' apresentou sua importância demonstrando uma maior dispersão nos dados, quantificada pelo coeficiente de variância.

Como resultado da estimativa de distância Euclidiana entre os genótipos, os valores das distâncias genéticas variaram de 0 a 8,73, com média de 3,15 (Tabela 7). Aproximadamente 40% dos pares de genótipos apresentaram distâncias genéticas médias iguais ou acima da média geral. As menores distâncias foram obtidas em genótipos dentro das combinações do cruzamento ‘Van Dyke’ x ‘Tommy Atkins’ consigo mesmo, corroborando a análise das distâncias genéticas realizada com marcadores SSR neste estudo, a qual revelou uma menor distância entre a variedade ‘Tommy Atkins’ e a ‘Van Dyke’, comparando-se com as demais variedades genitoras. Outro fato que pode ter colaborado para a constatação de uma distância mínima nesta combinação é a possibilidade de autofecundação da variedade genitora feminina.

**Tabela 8.** Amplitude das Distâncias Euclidianas e respectivas médias, entre as populações segregantes de manga resultantes dos cruzamentos entre a variedade ‘Tommy Atkins’ (TA) e as variedades ‘Haden’ (H), ‘Palmer’ (P), ‘Van Dyke’ (VD), ‘Espada’ (E) e ‘Keitt’ (K) calculadas com base em características físico-químicas de frutos.

	HxTA	VDxTA	KxTA	PxTA	ExTA
HxTA	0,38 a 8,63 (3,31)	0,71 a 6,22 (2,74)	0,77 a 6,69 (2,84)	0,33 a 7,48 (2,87)	0 a 8,73 (4,03)
VDxTA		0 a 2,98 (1,69)	0,97 a 5,01 (2,51)	1,25 a 4,96 (2,68)	0,90 a 6,25 (3,87)
KxTA			0,82 a 2,86 (2,06)	1,21 a 3,32 (2,18)	1,32 a 6,69 (3,54)
PxTA				1,30 a 2,63 (1,97)	0,70 a 7,48 (3,91)
ExTA					1,03 a 6,10 (3,64)

Valores mínimos de distâncias genéticas também se revelaram dentro da combinação dos cruzamentos ‘Espada’ x ‘Tommy Atkins’ e ‘Haden’ x ‘Tommy Atkins’, sugerindo que ambos os cruzamentos geraram genótipos similares e que as características da ‘Tommy Atkins’ se sobressaíram em alguns genótipos da progênie. Esta combinação de cruzamentos também apresentou a maior distância genética e a maior média de distância genética entre todos os pares de cruzamentos analisados, indicando que há uma boa variabilidade nestes dois cruzamentos.

Todas as combinações do cruzamento 'Espada' x 'Tommy Atkins' e a combinação do cruzamento 'Haden' x 'Tommy Atkins' consigo mesmo, apresentaram distâncias genéticas acima da média geral (3,15), evidenciando que estes cruzamentos detêm acentuada variabilidade genética. Considerando-se que estas distâncias genéticas foram obtidas com base em variáveis relacionadas à qualidade dos frutos, é possível inferir que esses dois cruzamentos promoveram um maior número de combinações para as variáveis analisadas e, portanto, tenham um maior potencial de gerar genótipos superiores quanto à qualidade dos frutos. Entretanto, a possibilidade de identificar genótipos superiores nas progênies dos demais cruzamentos também é revelada pelas distâncias genéticas estimadas.

Para representar a variabilidade genética das populações segregantes estudadas, bem como relacionar essa variabilidade às variáveis físico-químicas analisadas, foi gerado um dendrograma pelo método UPGMA, com base nas medidas euclidianas (Figura 4), incluindo seis descritores físico-químicos de frutos (peso médio, comprimento médio, largura média, sólidos solúveis totais – SST, acidez total titulável – ATT e pH). Com a finalidade de garantir a consistência do dendrograma, as variáveis Coloração da Polpa e Coloração da Casca de Frutos foram excluídas dessa análise por serem características qualitativas e a relação Sólidos Solúveis Totais e Acidez Total Titulável por ser uma relação de duas variáveis inclusas na análise. Este agrupamento revelou-se consistente, apresentando valor cofenético alto e significativo ( $r = 0,85$ ,  $p \leq 0,0001$ ), baixa distorção (5,12%) e estresse moderado (22,63%), o que mostra alta fidelidade na representação do conjunto dos dados segundo Sokal e Rohlf (1962) e Kruskal (1964).

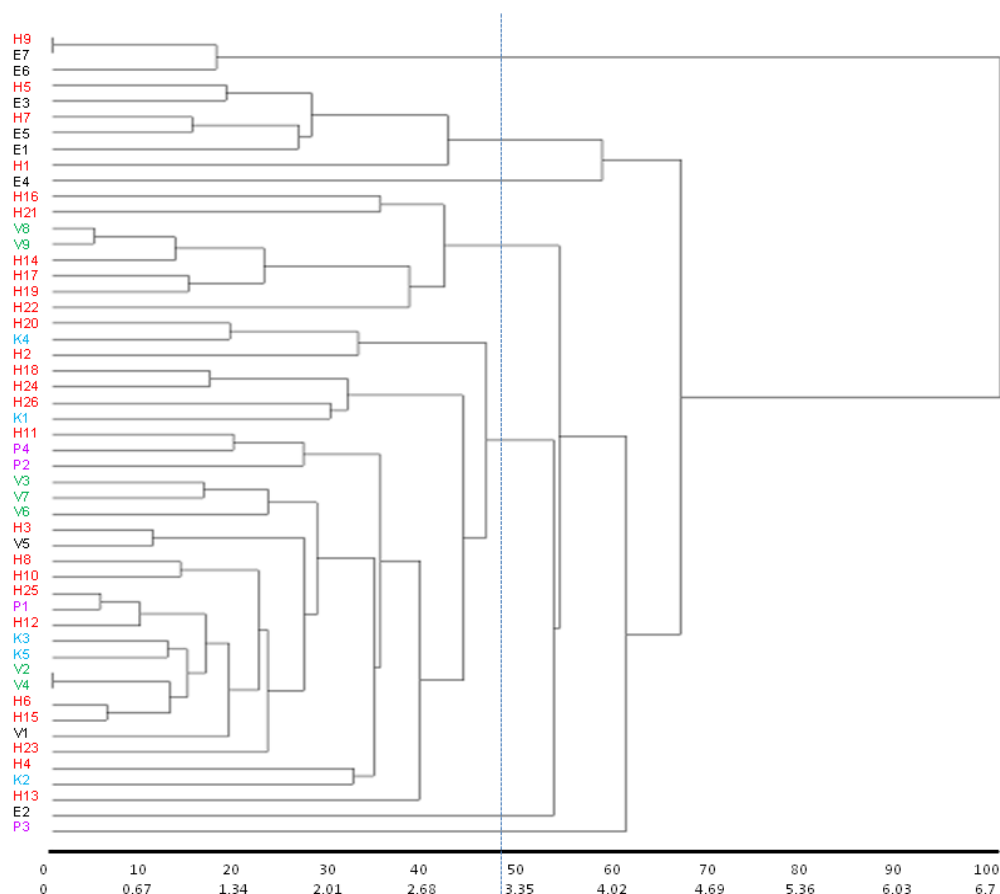
Não ocorreram agrupamentos que possam ser distinguidos somente pelos cruzamentos que geraram os genótipos, sugerindo que todos os cruzamentos geraram genótipos bastante heterogêneos para as variáveis físico-químicas analisadas. Assim, foi possível identificar os pares de genótipos detentores das mínimas distâncias genéticas (0), que são os genótipos H9 e E7 e os genótipos V2 e V4, bem como alguns genótipos distintos entre os 51 genótipos estudados, que compartilham características de frutos similares e superiores.

Fazendo-se um corte no dendrograma a uma distância de 3,15 (média das distâncias), são observados sete grupos (Tabela 7). Os grupos I e II têm frutos classificados como médios, que apresentam alto teor de Sólidos Solúveis Totais e

alto teor de Acidez Total Titulável. Isso promove baixa relação Sólidos Solúveis Totais / Acidez Total Titulável, conferindo sabor indesejável aos frutos devido à elevada acidez. O Potencial Hidrogeniônico foi de acordo com o da maioria das cultivares de manga, isto é, abaixo de 4,5 (BERNIZ, 1984) para o grupo I, porém, acima deste valor para o grupo II. No grupo III reuniram-se genótipos com frutos de tamanhos médios e grandes e variáveis nos teores de Sólidos Solúveis Totais, Acidez Total Titulável e no Potencial Hidrogeniônico. Esse grupo tem maior possibilidade de incluir recombinantes com a maioria das características desejáveis para o melhoramento genético, ou seja, aqueles com frutos de tamanho ideal e bom sabor. No grupo IV reuniram-se genótipos com frutos de tamanho pequeno e, na maioria deles, os mais elevados teores de Sólidos Solúveis Totais encontrados entre os híbridos avaliados neste estudo. Contudo, os teores de Acidez Total Titulável e o potencial Hidrogeniônico foram variáveis entre os genótipos deste grupo. O genótipo E4 que formou o grupo V possui frutos grandes, porém com baixo teor de Sólidos Solúveis Totais e alto teor de Acidez Total Titulável, o que compromete o sabor dos frutos devido à elevada acidez. O grupo VI detém genótipos de frutos médios, com potenciais hidrogeniônicos abaixo de 4,5 e teores de Sólidos Solúveis Totais e Acidez Total Titulável variáveis, sendo alta para aqueles provenientes do cruzamento entre a 'Haden' e a 'Tommy Atkins' e baixa para os resultantes do cruzamento entre a 'Espada' e a 'Tommy Atkins'. O grupo VII se formou isoladamente reunindo os genótipos H9, E6 e E7 que apresentam frutos de tamanho pequeno e baixos teores de Sólidos Solúveis Totais e altos teores de Acidez Total Titulável, que são características indesejáveis para o melhoramento genético da cultura.

O maior grupo (III) é formado por híbridos provenientes dos diversos cruzamentos, exceto do cruzamento entre a 'Espada' e a 'Tommy Atkins', que formaram grupos individuais (II e V) ou com genótipos resultantes do cruzamento entre a 'Haden' e a 'Tommy Atkins' (VI e VII). Este padrão é indicativo de singularidades da variedade 'Espada' em relação às demais nos cruzamentos com a 'Tommy Atkins'. Esta singularidade pode ser visualizada na forma de frutos menores com elevados teores de sólidos solúveis (Tabela 9). O número baixo de genótipos provenientes do cruzamento das variedades 'Tommy Atkins' e 'Espada' pode ter influenciado para a ausência de recombinantes deste cruzamento com as características predominantes no grupo III. Contudo, a distinção da variedade

‘Espada’ das demais variedades analisadas se confirma pelo tipo embriônico, pelo agrupamento das variedades genitoras, com base em dados SSR, que apresentou a variedade ‘Espada’ isolada do agrupamento das demais e pelas distâncias euclidianas entre as populações segregantes dos cinco cruzamentos que sugerem que este cruzamento é mais distinto das demais combinações, o que justifica seus híbridos se apresentarem em grupos isolados.



**Figura 4.** Dendrograma de 51 genótipos de manga, construído a partir de seis descritores físico-químicos de frutos (peso médio, comprimento médio, largura média, sólidos solúveis totais – SST, acidez total titulável – ATT e pH), usando o método UPGMA.

**Tabela 9.** Grupos formados no agrupamento UPGMA de 51 genótipos de manga provenientes do cruzamento da variedade ‘Tommy Atkins’ com as variedades ‘Haden’, ‘Espada’, ‘Keitt’, ‘Palmer’ e ‘Van Dyke’, com base em seis descritores físico-químicos de frutos (peso médio, comprimento médio, largura média, sólidos solúveis totais – SST, acidez total titulável – ATT e pH).

Grupo	Genótipo	Característica comum*	Característica variável*
I	P3	-	-
II	E2	-	-
III	H2, H4, H6, H8, H10, H11, H12, H13, H15, H18, H20, H23, H24, H25, H26, V1, V2, V3, V4, V6, V7, K1, K2, K3, K4, K5, P1, P2, P4	Tamanho dos frutos	Teores de Sólidos Solúveis Totais e Acidez Total titulável e pH.
IV	H14, H16, H17, H19, H21, H22, V8, V9	Tamanho dos frutos	Teores de Sólidos Solúveis Totais e Acidez Total Titulável e pH.
V	E4	-	-
VI	H1, H5, H7, E1, E3, E5	Tamanho dos frutos e pH	Teores de Sólidos Solúveis Totais e Acidez Total Titulável.
VII	E6, E7, H9	Tamanho dos frutos, teor de Sólidos Solúveis Totais, teor de Acidez Total Titulável e pH	-

\*Aplicáveis para grupos que possuem mais de um genótipo.

A maioria dos híbridos provenientes do cruzamento de ‘Tommy Atkins’ com ‘Haden’ e todos os híbridos do cruzamento de ‘Tommy Atkins’ com ‘Keitt’ se encontram no grupo III. Este resultado corrobora a análise da variabilidade dos genitores baseada nos marcadores SSR, que indicou as combinações da ‘Tommy Atkins’ com a ‘Keitt’ e a ‘Haden’, como as de maior potencial para efeito heterótico. A combinação de dados morfológicos e moleculares comprova a possibilidade de correlacionar marcadores moleculares a determinados genes de interesse, visando à seleção precoce e a futuros mapeamentos genéticos em mangueira.

As estimativas dos coeficientes de correlação ( $r_s$ ) entre as variáveis, calculadas com base no conjunto dos 51 genótipos, possibilitaram evidenciar que aproximadamente metade (46,4%) das associações foi significativa pelo teste t (1 ou 5 % de probabilidade), com valores absolutos variando de -0,63 a 0 e de 0 a 0,77 (Tabela 3). Como esperado, o peso dos frutos apresentou correlação positiva e

altamente significativa com o comprimento (0,77) e a largura dos frutos (0,66). Tanto o peso quanto a largura dos frutos apresentaram correlação positiva e significativa com a coloração da casca com base nos 51 genótipos avaliados. Essa associação entre o tamanho e a cor dos frutos é uma grande vantagem para o melhoramento da cultura, uma vez que a cor e o tamanho são os primeiros atributos observados pelo consumidor em um fruto de manga. Esta correlação positiva é influência direta da variedade 'Tommy Atkins' que apresenta frutos grandes com cor intensa da casca e foi usado para todos os cruzamentos.

As características físicas Peso Médio dos Frutos, Comprimento Médio dos Frutos e Largura Média dos Frutos não apresentaram correlação significativa com as variáveis químicas Sólidos Solúveis Totais, Acidez Total Titulável e Potencial Hidrogeniônico na análise desses 51 genótipos. Contudo, em outras frutíferas, como maçã e maracujá, ocorre tendência de comprometimento no sabor em frutos com tamanho aumentado (SALVADOR et al., 2006; VIANA et al., 2003).

**Tabela 4.** Correlação (rs) entre as variáveis físico-químicas de frutos de manga (*Mangifera indica* L.) de 51 genótipos derivados dos cruzamentos da variedade 'Tommy Atkins' com as variedades 'Haden', 'Palmer', 'Van Dyke', 'Espada' e 'Keitt'.

Variáveis <sup>a</sup>	PMF	CCF	CPF	CMF	LMF	SST	ATT	pH
MF	1	0,28*	0,10	0,77**	0,66**	0,03	-0,16	0,07
CCF		1	0,72**	0,09	0,27*	0,58**	-0,37**	0,56**
CPF			1	-0,08	0,26	0,44**	-0,33**	0,60**
CMF				1	0,39**	-0,00	-0,04	-0,10
LMF					1	-0,16	-0,02	0,21
SST						1	-0,10	0,25
ATT							1	-0,63**
pH								1

<sup>a</sup> Variáveis: PMF (Peso Médio dos Frutos), CCF (Coloração da Casca dos Frutos), CPF (Coloração da Polpa dos Frutos), CMF (Comprimento Médio dos Frutos), LMF (Largura Média dos Frutos), SST (Sólidos Solúveis Totais), ATT (Acidez Total Titulável), pH (Potencial Hidrogeniônico).

\* 0,01 < p < 0,05; \*\* p < 0,01;

Houve correlação negativa significativa da variável Acidez Total Titulável com Coloração da Casca dos Frutos, Coloração da Polpa dos Frutos e Potencial Hidrogeniônico, indicando que a diminuição da acidez dos frutos resulta em colorações mais avermelhadas para a casca e amarelo mais intenso para a polpa, o



que é muito desejável para o melhoramento da cultura. Reis et al. (2000) constataram que quanto mais amarelos são os frutos de tangerina menor é a acidez. Isso se justifica pela demanda energética aumentada no metabolismo durante o amadurecimento dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Quanto ao Potencial Hidrogeniônico, enquanto os níveis de acidez diminuem, os de Potencial Hidrogeniônico naturalmente aumentam. Neste estudo o Potencial Hidrogeniônico apresentou correlação positiva e significativa também com Coloração da Casca dos Frutos e Coloração da Polpa dos Frutos, sugerindo que maiores níveis de Potencial Hidrogeniônico ocorrem em frutos de manga com colorações mais intensas, uma constatação muito interessante, portanto, para o melhoramento da cultura.

Baseando-se na magnitude das correlações encontradas neste experimento constata-se que é difícil obter genótipos recombinantes desejáveis em relação ao tamanho, cor e sabor dos frutos, simultaneamente. Contudo, observou-se uma relação entre o grau de coloração da casca e da polpa com as características relacionadas ao sabor dos frutos (Sólidos Solúveis Totais, Acidez Total Titulável e Potencial Hidrogeniônico) demonstrando que a cor dos frutos de manga, no *background* genético utilizado neste trabalho, é um indicador da qualidade, assim como já foi observado em tangerina (REIS et al., 2000). Além disso, existe uma preferência dos consumidores por frutos mais coloridos, provavelmente não somente pela idéia de amadurecimento conferida pela coloração, mas também por essa relação com o sabor.

Finalmente, com base nos resultados do presente trabalho, sugere-se o uso das estimativas de distância genética por marcadores SSR para fornecer uma informação imediata da variabilidade genética disponível em variedades de *M. indica* e ressalta-se que o uso de descritores físico-químicos ainda é essencial, uma vez que fornecem informação sobre a variabilidade genética e são fundamentais para a identificação de genótipos de manga com qualidades superiores em relação aos frutos.

## 5. CONCLUSÕES

As distâncias genéticas entre as seis variedades obtidas com base nos marcadores microssatélites evidenciam que essas variedades apresentam variabilidade genética compatível com o em programas de melhoramento genético da cultura, especialmente na construção de mapas genéticos.

O cruzamento entre a 'Espada' e a 'Tommy Atkins' foi o que gerou mais variabilidade genética em relação às variáveis físico-químicas. , porém o que revelou as melhores combinações híbridas para o melhoramento genético foi entre a 'Haden' e a 'Tommy Atkins'.

A variabilidade genética detectada entre os genótipos de manga obtida com base nas variáveis físico-químicas evidenciam que os cruzamentos estudados apresentam-se adequados para gerar populações úteis ao melhoramento genético da qualidade do fruto, especialmente na identificação de QTL's para os componentes da referida qualidade.

Existe correlação entre as variáveis físico-químicas analisadas, sendo a coloração da casca e da polpa dos frutos as variáveis que demonstraram alta relação com o tamanho e o sabor dos frutos, podendo assim ser um indicador da qualidade desejada.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, T. B. F. **Colheita e pós-colheita: manejo e conservação da manga**. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Org.). O agronegócio manga: produção e mercado. Vitória da Conquista: UESB/DFZ, 2002, p. 346-356, 1 CD-ROM.

AMORIM, D. D.; TEIXEIRA, A. M. ; BOECHAT, C. L.; DRUMOND NETO, A. P.; ATAÍDE, E. M.; COSTA, A. S. V. Produção e caracterização de frutos de genótipos de mangueira cultivados no leste de Minas Gerais. In: XX Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2008, Vitória/ES. **Anais...** Vitória : Incaper, 2008

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2007,136p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Washington: AOAC, 1992.

AYRES, M. et al. **BioEstat 5.0**: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, MCT. Disponível em: <http://www.mamiraua.org.br/download/index.php?dirpath=./BioEstat%205%20Portugues&order=0>. Acesso em: 02 mar.2009.

BALESTRE, M.; VON PINHO, R.G.; SOUZA, J.C.; LIMA, J.L. Comparison of maize similarity and dissimilarity genetic coefficients based on microsatellite markers. **Genetics and Molecular Research**, v.7, p.695-705, 2008.

BALLY, I. S. E. *Mangifera indica* (mango). In: **Species Profiles for Pacific Island Agroforestry**. 2009. Disponível em: [www.traditionaltree.org](http://www.traditionaltree.org). Acesso em: 22 de abril de 2009.

BERNARDO, R. Breeding for Quantitative Traits in Plants. **Woodbury: Stemma Press**, 2002, 360 p.

BERNIZ, P. J. **Avaliação industrial de variedades de manga (*Mangifera indica* L.) para elaboração de néctar**. 1984, 55p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

BOMPARD, J. M.; SCHNELL, R. J. Taxonomy and systematics, In: LITZ, R. E., ed, **The mango Botany, production and Uses**. Wallingford, Oxon: CAB International, 1998, p. 21-47. Disponível em: <http://books.google.com.br/bkshp?hl=pt-BR&tab=wp>. Acesso em: 28 de agosto de 2009.

BONETTI, L. P. Cultivares e seu melhoramento genético. In: FUNDAÇÃO CARGILL, **Soja genética e melhoramento**, v. 2, p. 741–800, 1983.

BORÉM, A. **Biotecnologia Florestal**. Viçosa: UFV, 2007, 387p.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores Moleculares**. Viçosa-MG: UFV, 2006.

BOREM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de Plantas**. 5. Ed. Viçosa: Editora Universitária, 2009. 529p.

BOX, G. E. P.; COX, D. R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Statistical Society**. v. 26, n. 2, p. 211–252, 1964.

BOTREL, N. Manga: Variedades, Qualidade e Tecnologia Pós-Colheita. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.17, n. 179, p.55-60, 1994.

BRASIL. Ministério da Integração Nacional. **Manga**. Brasília, 1999. 4p. (FrutiSéries, 2 - Minas Gerais).

BRUNINI, M. A.; DURIGAN, J. F.; OLIVEIRA, A. L. Avaliação das alterações em polpa de manga ‘Tommy-Atkins’ congeladas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, p. 651-653, 2002.

CARVALHO, C. R. L., ROSSETTO, C. J., MANTOVANI, D. M. B., MORGANO, M. A., CASTRO, J. V., BORTOLETTO, N. Avaliação de cultivares de mangueira selecionadas pelo instituto agrônômico de campinas comparadas a outras de importância comercial. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 26, n. 2, p. 264-271, 2004.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; CARDOSO-SILVA, C. B.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S.; NONATO, J. V. A.; OLIVEIRA, A. C.; CORRÊA, R. X. Comparison of coefficients and distance measurements in passion fruit plants based on molecular markers and physicochemical descriptors. **Genetics and Molecular Research**. v. 8, n. 3, p. 870-879, 2009.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: Ed. UFLA, 2005. 2 ed. 785p.

COMUNIDAD ANDINA, Disponível em:  
<<http://www.comunidadandina.org/document/estu/sgdi101r1.html>>  
Acesso em: 10 julho 2001.

COSTA, J. G.; SANTOS, C. A. F. **Cultivo da Mangueira**. Disponível em:  
<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Manga/CultivodaMangueira/cultivares>. Acesso em: 25 de julho de 2009.

CRESTE, S.; TULMANN-NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 19, p. 299-306, 2001.

CRUZ, C. D. Programa Genes - Aplicativo computacional em genética e estatística, versão 2007.0.0. Disponível em: <http://www.ufv.br/dbg/genes/genes.htm>. Acesso em: 15 dezembro de 2007.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3 ed., Editora UFV, Viçosa, v. 1, 2004, 480p.

CUNHA, A. P.; SAMPAIO, J. M. M.; NASCIMENTO, A. S.; SANTOS FILHO, H. P.; FONSECA, N. **A cultura da Manga**. Brasília: EMBRAPA – SPI, 1994.

DEGANI, C.; COHEN, M.; REUNEVI, O.; EL-BATSRI, R.; GAZIT, S. Frequency and characteristics of zygotic seedlings from polyembryonic mango cultivars, determined using isozymes as genetic markers. **Acta Horticulturae**, v.341, p.78-85, 1993.

DEGANI, C.; YUTKO, O.; EL-BATSRI, R.; GAZIT, S. Outcrossing rate in adjacent 'Maya' and 'Tommy Atkins' mango blocks. **Scientia Horticulturae**, n.70, p.25-30, 1997.

DIAS, L. A. S.; KAGEYAMA, P. Y.; CASTRO, G. C. T. Divergência genética multivariada na preservação de germoplasma de cacau (*Theobroma cacao* L.). **Agrotropica**, Bahia, v.9, n.1, p.29-40, 1997.

DIAS, N. O.; VILA, M. T. R.; VIANA, A. E.; REBOUÇAS, T. N. H. ; JOSÉ, A. R. S.; BOARETTO, M. A. C.; BONFIM, M. P.; RIBEIRO, A. E. L. Incidência e severidade da malformação floral em seis cultivares de mangueira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v. 25, n. 1, p. 179-180, 2003.

DÍAZ-MATALLANA, M.; SCHULER-GARCÍA, I.; RUIZ-GARCIA, M.; JARAMILLO, E. H. Analysis of diversity among six populations of Colombian mango (*Mangifera indica* L. cvar, Hilacha) using RAPDs markers. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.12, n.3, p.1-8, 2009.

DONADIO, L. C.; SOARES, N. B.; MORAES, L. G.; XAVIER, N. J. D.; SCALOPI, E. J.; PIZA JUNIOR, C. T. **Características de algumas variedades de mangueira cultivadas no Estado de São Paulo**. São Paulo: CATI, 1982. 16p. (CATI, Boletim Técnico, 171).

DONADIO, L. C. Variedades de mangueira, In: SÃO JOSÉ, A. R.; SOUZA, I. V. B.; MARTINS FILHO, J.; MORAIS, O. M. **Manga, Tecnologia de produção e mercado**. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, p. 32-56, 1996.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12, p.13-15, 1990.

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

FANG, J. G.; ZHANG, Z.; MA, Z. W.; LIU, D. J.; WANG, S. H.; LAVI, U. The polymorphism and segregation patterns in the F1 progenis from the cross of two mango cultivars. **Scientia Agricultura Sinica**, v. 33, n. 3, p.19–24, 2000.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: EMBRAPA/CENARGEN, 1998. 220p.

FONSECA, N. Variedades comerciais de manga no nordeste. **MANGA EM FOCO**. Cruz das Almas – BA, n.1, 1994.

GÁLVEZ-LÓPEZ, D., HERNÁNDEZ-DELGADO, S., GONZÁLEZ-PAZ, M., BECERRA-LEOR, N., SALVADOR-FIGUEROA, M., MAYEK-PÉREZ, N. Genetic Analysis of mango landraces from México based on molecular markers. *Plant Genetic Resourch*. v.7, p. 244-251, 2009.

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 12. Ed. São Paulo: Nobel, 1990, 467p.

HOJO, E. T. D. **Qualidade de mangas ‘Palmer’ tratadas com 1-metilciclopropeno e armazenadas sob refrigeração**. Lavras, MG: UFLA, 2005. 127p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2005.

HONSHO, C.; NISHIYAMA, K.; EIADTHONG, W.; YONEMORI, K. Isolation and characterization of new microsatellite markers in mango (*Mangifera indica*), **Molecular Ecology Notes** v. 5, p.152–154, 2005.

KOSTERMANS, A. F. G. H.; BOMPARD, J. M. **The Mangoes: Botany, Nomenclature, Horticulture and Utilization**. London: Academic Press, 1993.

KUMAR, N. V. H., NARAYANASWAMY, P., PRASAD, D.T., MUKUNDA, G.K., SONDHUR, S.N. Estimation of genetic diversity of commercial mango (*Mangifera indica* L.) cultivars using RAPD markers. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 76, n. 5, p. 529–533, 2001.

KRUSKAL, J.B. Nonmetric multidimensional scaling: a numerical method, **Psychometrika**, v. 29, p.115-129, 1964.

LIMA NETO, F. P.; SANTOS, C. A. F.; LIMA FILHO, J. M. P.; SANTOS, I. C. N. **Avaliações de híbridos de mangueiras entre as variedades Tommy Atkins e Espada, em um ciclo de produção, no Semi-árido Brasileiro.** In: XX Congresso Brasileiro de Fruticultura. Vitória - ES, 2008.

LITZ, R. E. Introduction: Botany and importance. In: LITZ, R. E. (Ed) **The mango: botany, production and uses.** 2. Ed., 2009, 671p.

LITZ, R. E.; GOMEZ-LIM, M. A. Genetic transformation of mango. In: Khachatourians, G.; McHughern, A.; Scorza, R.; Nip, W. K.; Hui, Y. H. (Eds) **Marcel Dekker Transgenic Plants and Crops.** New York, 2002, p. 421-436.

MAIA, G. A.; SILVA, M. F. A.; HOLANDA, L. F. F.; MONTEIRO, J. C. S.; ORIÁ, H. F.; FIGUEIREDO, R. W. Estudos da maturação de algumas variedades de manga (*Mangifera indica* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.8, n.2, p.67-74, 1986.

MANICA, I. **Fruticultura Tropical: Manga.** São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1981. 135p.

\_\_\_\_\_. Colheita – embalagem – armazenamento. In: \_\_\_\_\_. **Manga: tecnologia produção, agroindústria e exportação.** Porto Alegre: Cinco Continentes, p. 435-543, 2001.

MILACH, S. C. K. Principais tipos de marcadores moleculares e suas características, In: MILACH, S. C. K. **Marcadores moleculares em plantas.** Porto Alegre: UFRGS, 1998, p. 17-28.

MIRANDA, Z. F. S.; ARIAS, C. A. A.; PRETE, C. E. C.; KIHLE, R. A. S.; ALMEIDA, L. A. A.; TOLEDO, J. F. F.; DESTRO, D. Genetic characterization of ninety elite soybean cultivars using coefficient of parentage. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.363-396, 2007.

MUKHERJEE, S. K. Introduction: Botany and importance. In: Litz, R. E. (Ed.) **The mango Botany, production and Uses.** Wallingford, Oxon: CAB International, 1998, p. 1-19. Disponível em: <http://books.google.com,br/bkshp?hl=pt-BR&tab=wp>. Acesso em: 28 de agosto de 2009.

NUNES, R. F. M.; SAMPAIO, J. M. M.; RODRIGUES, J. A. **Comportamento da mangueira (*Mangifera indica* L.) sob irrigação na região do Vale do São Francisco.** Petrolina, 2001. (Circular Técnica, 66).

OLIVEIRA, J. M. C.; ANJOS, A. P. A. Frutas da Bahia: desempenho e perspectivas. **Bahia Agrícola**, v. 8, n. 2, 2008.

PANDIT, S. S.; MITRA, S.; GIRI, A. P.; PUJARI, K. H.; PATIL, B. P.; JAMBHALE, N. D.; GUPTA, V. S. Genetic diversity analysis of mango cultivars using inter simple sequence repeat markers. **Current Science**, v.93, n.8, p. 1135-1141, 2007.

PANHWAR, F. **Genetic breeding and selection of mangoes in Pakistan**. Germany: Digitalverlag Gmbh, 2005.

PATERSON, A. H.; LANDER, E. S.; HEWITT, J. D.; PATERSON, S.; LINCOLN, S. E.; TANKSLEY, S. D. Resolution of quantitative trait Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. **Nature**, v.335, p. 721-726, 1998.

PINTO, A. C. Q.; MATOS, A. P.; CUNHA, G. A. P. Variedades. In: MATOS, A. P. (Org). **Manga**: produção, aspectos técnicos. Cruz das Almas: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000, 63 p. (Frutas do Brasil; 4).

PINTO, A. C. Q.; SOUZA, V. A. B.; ROSSETTO, C. J.; FERREIRA, F. R.; COSTA, J. G. Melhoramento Genético. In: GENUÍ, P. J. C.; PINTO, A. C. Q. (Eds.). **A Cultura da Mangueira**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 53-92, 2002a.

PINTO, A. C. Q.; COSTA, J. G.; SANTOS, C. A. F. Principais variedades. In: Genú, P. J. C.; Pinto, A. C. Q. **A cultura da mangueira**, Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002b.

PINTO, A. C. Q. Melhoramento da mangueira (*Mangifera indica* L.) no ecossistema dos cerrados do Brasil central por meio de hibridação, **Pesquisa agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n.3, p. 369-374, 1995.

PINTO, A. C. Q. Entrevista concedida ao site **TODA FRUTA**. Disponível em [HTTP://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra\\_conteudo.asp?conteudo=1466](http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=1466). Acesso em 21 de fevereiro de 2007.

PINTO, A. C. Q. Melhoramento da mangueira (*Mangifera indica* L.) no Brasil. In: ROZANE, D. E. et al. (Eds). **Manga – produção integrada, industrialização e comercialização**. Viçosa: UFV, 2004. 604 p.

PIZZOL, S. J.; FILHO MARTINES, J. G.; SILVA, T. H. S.; GONÇALVES, G. O mercado da manga no Brasil: aspectos gerais, **Preços Agrícolas**, Piracicaba, v.12, n.142, p. 34, 1998.

PRADEEPKUMAR, T.; PHILIP, J.; JOHNKUTTY, I. Variability in physico-chemical characteristics of mango genotypes in northern Kerala, **Journal of Tropical Agriculture**, v.44, n.1-2, p.57-60, 2006.

RAMOS, A. M.; SOUSA, P. H. M.; BENEVIDES, S. D. Tecnologia da industrialização da manga. In: **MANGA**: Produção Integrada, Industrialização e Comercialização. 1. ed., Visconde do rio Branco- MG, Suprema Gráfica e editora Ltda, 2004. p. 571-604.

RAMIREZ, I. M.; RODRIGUEZ, N. N.; VALDES-INFANTE, J.; CAPOTE, M.; BECKER, D.; ROHDE, W. Isolation of genomic DNAs from the tropical fruit trees avocado, coconut, guava and mango for PCR-based DNA marker application, **Cultivos Tropicales**, v. 25, n.1, p.33-8, 2004.



RAVISHANKAR, K. V.; CHANDRASHEKARA, P.; SREEDHARA, S. A.; DINESH, M. R.; ANAND, L.; SAIPRASAD, G. V. S. Diverse genetic bases of Indian polyembryonic and monoembryonic mango (*Mangifera indica* L) cultivars. **Current Science**, v. 87, n.7, 2004.

REIS, J. M. R.; LIMA, L. C.; BOAS, E. V. B. V.; CHITARRA, A. B. Relação entre o grau de coloração da casca e algumas características de qualidade de tangerina 'ponkan'. **Ciência agrotecnica**, Lavras, v. 24 (Edição Especial), p.182-186, 2000.

RODRIGUES, M. A.; SANTOS, C. A. F.; LIMA, R. S. N.; LIMA NETO, F. P., Identificação de híbridos entre cultivares de mangueira via marcador de DNA AFLP, In: Jornada de Iniciação Científica da EMBRAPA Semi-árido, 2, **Anais...** Petrolina: Embrapa Semi-Árido, p.141-146, (Documentos, 205), 2007.

ROZANE, M. S.; DAREZZO, R. J.; AGUIAR, R. L.; AGUILERA, G. H. A. A.; ZAMBOLIM, L. **Manga**: produção integrada, industrialização e comercialização. Universidade Federal de Viçosa, 2004, 604 p.

SALLES, G.; BUSO, G. S. C.; CIAMPI, A. Y.; MORETZSOHN, M. C.; AMARAL, Z. P. S. Protocolo para desenvolvimento de marcadores microssatélites. **Circular Técnica**. v. 20, p.1-11, 2003.

SALVADOR, F. R., FISICHELLA, M., FONTANARI, M. Correlations between fruit size and fruit quality in apple trees with high and standard crop load levels. **Journal of Fruit and Ornamental Plant Research** v.14, p. 113-122, 2006.

SANTOS, C. A. F., LIMA NETO, F. P., RODRIGUES, M. A., COSTA, J. G. Similaridade genética de acessos de mangueira de diferentes origens geográficas avaliadas por marcadores AFLP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.3, p.736-740, 2008.

SERA, T.; ALVES, S. J. Melhoramento Genético de Plantas Perenes. In: DESTRO, D. **Melhoramento genético de Plantas**. 1999.

SILVA, D. F. P.; SIQUEIRA, D. L.; PEREIRA, C. S.; SALOMÃO, L. C. C.; STRUIVING, T. B. Caracterização de frutos de 15 cultivares de mangueira na zona da Mata mineira. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 56, n. 6, p. 783-789, 2009.

SOARES, N. B. Mangueira. In: MELETTI, L. M. M. **Propagação de frutíferas tropicais**. Guaíba: Agropecuária, 2000, p.178-187.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, v.11, n.1, p.30-40,1962.

SUGAI, A. Y. **Processamento descontínuo de purê de manga (*Mangifera indica* Linn.), variedade Haden: estudo da viabilidade do produto para pronto consumo**. São Paulo, SP: Escola politécnica da USP, 2002, 82p. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Universidade de São Paulo, 2002.

TODA FRUTA. **Melhoramento da mangueira**. 2004. Disponível em: <  
[http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra\\_conteudo.asp?conteudo=7818](http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=7818)>.  
Acesso em: 26 de novembro de 2009.

TÓTH, G.; GÁSPÁRI, Z.; JURKA, J. Microsatellite in different eukaryotic genome survey and analysis. **Genome Research**, v. 10, n. 7, p. 967-981, 2000.

UKOSKIT, K. Development of Microsatellite Markers in Mango (*Mangifera indica* L.) using 5' anchored PCR. **Thummasat International Journal of Science and Technology**, v. 12, n. 3, 2005.

VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SOUZA, M. M.; MALDONADO, J. F. M., AMARAL JÚNIOR, A. T. Simple and canonic correlation between agronomical and fruit quality traits in yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) populations. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 3, n. 2, p. 133-140, 2003.

VIRUEL, M. A.; ESCRIBANO, P.; BARBIERI, M.; FERRI, M. HORMAZA, J. I. Fingerprinting, embryo type and geographic differentiation in mango (*Mangifera indica* L., Anacardiaceae) with microsatellites. **Molecular Breeding**, v. 15, p. 383-393, 2005.