



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA PROGRAMA
DE PÓS GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS



DEISY AIANE LIMA DE AQUINO

**CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA À *Colletotrichum siamense* E
ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA PARA RESISTÊNCIA À *Lasiodiplodia
theobromae* E *Neofusicoccum parvum* EM *Mangifera indica***

Feira de Santana - BA

2021

DEISY AIANE LIMA DE AQUINO

**CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA À *Colletotrichum siamense* E
ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA PARA RESISTÊNCIA À *Lasiodiplodia
theobromae* E *Neofusicoccum parvum* EM *Mangifera indica***

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade Estadual de Feira de Santana, como requisito para obtenção do título de Doutora em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: PhD. Carlos Antônio Fernandes Santos

Feira de Santana - BA

2021

Ficha catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteado - UEFS

Aquino, Deisy Aiane Lima de
A669c Controle genético da resistência à *Colletotrichum siamense* e
associação genômica ampla para resistência à *Lasiodiplodia theobromae*
e *Neofusicoccum parvum* em *Mangifera indica* / Deisy Aiane Lima de
Aquino. - 2021.
86f. : il.

Orientador: Carlos Antônio Fernandes Santos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Feira de Santana.
Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2021.

1. *Mangifera indica*. 2. Melhoramento genético. 3. GWAS. 4.
Herança biológica. I. Santos, Carlos Antônio Fernandes, orient. II.
Universidade Estadual de Feira de Santana. Programa de Pós-
Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. III. Título.

CDU: 582.765:582.28

Rejane Maria Rosa Ribeiro – Bibliotecária CRB-5/695

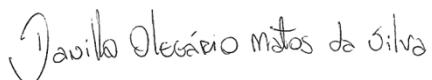
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Rita Mécia Estigarribia Borges Faustino
(Embrapa Semiárido)



Prof. Dr. Diógenes da Cruz Batista
(Embrapa Semiárido)



Prof. Dr. Danillo Olegário Matos da Silva
(Faculdade Maurício de Nassau)



Prof. Dr. Luiz Cláudio Costa Silva
(Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS)



Prof. Dr. Carlos Antônio Fernandes Santos
(Embrapa Semiárido)
Orientador e Presidente da Banca

Feira de Santana – BA

2021

Ofereço

A minha mãe, Maria das Dôres, as minhas irmãs Aline e Amanda, a minha sobrinha Lívia, ao meu cunhado Thiago Lopes e ao meu amigo/irmão Tiago Lima, por me fazerem mais forte na minha caminhada.

A minha mãe, Maria das Dôres *in memoriam*.

Minhas irmãs, Aline e Amanda

Minha filha, Brendah

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me sustentou nos momentos mais difíceis e sustenta, nos momentos de desânimo e angústias esteve comigo, me envolveu em seus braços e me sustentou.

Esta etapa de minha vida, somente se tornou possível, devido ao auxílio de muitas pessoas a quem devo agradecimentos especiais.

A toda minha família, especialmente à minha mãe Maria das Dôres, por me educar com todas as dificuldades e me ensinar a lutar e não depender de ninguém para alcançar meus objetivos, pelo apoio dado em meus estudos. À minha irmã Darley Amanda e minha mãe, pela atenção, cuidado, amor e carinho que dedicaram à minha filha nos momentos em que, ficaram com ela quando tive que ir para Feira de Santana cursar as disciplinas. A minha irmã Aline e em especial à minha sobrinha Lívia, que foi a companhia da minha filha, quando me ausentei e com certeza ajudou a não sentir muito a minha falta.

A minha filha Brendah Rafaële, por me ser a minha força diária, pois graças a você eu não teria lutado, não teria acreditado, teria desistido no primeiro momento em que o barco balançou. Pelos momentos de conversa em que sempre quando chegava da Embrapa me perguntava: Como foi seu dia? Está cansada? Agradeço pelos abraços quando me via chorar e dizia que eu ia conseguir, por mais nova que seja tinha essa compreensão.

Ao meu orientador, Profº, PhD. Carlos Antônio Fernandes Santos, pelos ensinamentos, paciência, pelas dúvidas tiradas, por toda ajuda e conselhos “tempo perdido não volta”.

Ao pesquisador, Drº Diógenes da Cruz Batista, pela ajuda e orientações na área de fitopatologia e disponibilização do laboratório de fitopatologia.

Ao meu amigo/irmão Tiago Lima, por seu companheirismo, conselhos, por toda ajuda, palavras de incentivo, confiança, pelas conversas, risadas, pela paciência em me explicar as coisas quando eu não entendia, por sempre estar disposto a me ajudar em qualquer hora, pelas madrugadas que passou em claro me ajudando e foram muitas, principalmente nos momentos mais difíceis, meu anjo sem asas aqui na Terra e principalmente pela sua amizade. Muito obrigada.

Aos meus amigos do laboratório de genética vegetal Carlos (cabeção), por tornar os dias de trabalho em dias comuns, sua presença é luz no laboratório, Antônio, Flávia

Medeiros, Maria Eduarda (Duda), Silvia (a menina de ouro), Mariane, Lucas, Danillo, Viviane, pelos momentos divertidos.

Aos colegas que passaram pelo laboratório, Soniane, Williano e em especial Sirando, que se dispôs a me ensinar a utilizar o programa estatístico GACD.

Aos meus amigos Tiago Lima, seu Cicero, Geraldo, Paloma, Hebert, Marcos, Duanny, Raila, Felipe, Juliana Andrade, Larisse Laranjeira, Roberta Lany, Juliane, Fabrício, Washington, Gonçala, Euda, por aliviar a tensão do dia a dia.

Ao trabalhador do Campo Experimental de Mandacaru Altamirando, pela ajuda imprescindível nas avaliações do trabalho.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais - PPGRGV, da Universidade Estadual de Feira de Santa - UEFS, que compartilharam seus conhecimentos, auxiliando na construção da minha carreira profissional.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB, e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela bolsa concedida.

À Embrapa Semiárido e ao Laboratório de Genética Vegetal, por toda infraestrutura disponibilizada para a realização deste trabalho.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho, meu muito obrigada!

*Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso. Não se apavore nem desanime,
pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar.*

Josué 1:9

RESUMO

A mangueira (*Mangifera indica* L.) é uma cultura frutífera tropical e subtropical econômica e nutricionalmente importante, sendo a antracnose causada pelo fungo *Colletotrichum siamense*, e a, morte-descendente causadas por *Lasiodiplodia theobromae* e *Neofusicoccum parvum* fatores limitantes da sua produção. Portanto, o estudo teve por objetivos estudar o controle genético da resistência à antracnose em progêneres de mangueira obtidas via cruzamentos naturais e, identificar por meio da associação genômica com base em marcadores de polimorfismo único (SNP) e microssatélites *loci* associados à resistência para a morte-descendente. No primeiro estudo, avaliou-se a resistência à antracnose nos cultivares ‘Haden’, ‘Keitt’ e ‘Tommy Atkins’ e estudou-se o controle genético da resistência e a herdabilidade nas populações obtidas dos cruzamentos entre ‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’ e ‘Keitt’ × ‘Tommy Atkins’. Para a avaliação da resistência dos pais e o controle genéticos nas populações, a inoculação do fungo foi realizada em ramos contendo folhas jovens da planta. Para a estimativa do parâmetro de herdabilidade utilizou o método REML / BLUP de modelo misto, bem como a fórmula do modelo de Burton (MB). Para o controle genético da resistência o teste de aderência qui-quadrado foi empregado nas populações. As cultivares ‘Keitt’ e ‘Haden’, foram resistentes ao fungo *C. siamense*, enquanto ‘Tommy Atkins’ foi moderadamente suscetível. A resistência à antracnose é de herança simples 15:1 conferida por alelos recessivos de efeito epistático, para ambas populações ‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’ e ‘Keitt’ × ‘Tommy Atkins’. A herdabilidade pelo REML/BLUP foi 88% para ‘Haden’ x ‘Tommy Atkins’ e 78% para ‘Keitt’ x ‘Tommy Atkins’ e pelo MB 90%. No segundo estudo dados de polimorfismo único (SNP) e microssatélites de 95 plantas da população ‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’ foram analisados por associação alélica e genotípica, modelos lineares (GLM) e linear misto (MLM) para morte-descendente *L. theobromae* e *N. parvum*. Foram identificadas associações genômicas de consenso no cromossomo 12, posição 10,60 Mb (Mi_0096) e cromossomo 1 (Mango_rep_c1316) posição 14,67 Mb, com associação ($P<0,0049$) a *L. theobromae loci*, representando 20% da variação total. Considerando as regiões adicionais identificadas nos cromossomos 11 e 8 (posições 24,57 Mb e 9,34 Mb, respectivamente), por GLM e MLM, explicam 36% da variação total para essa doença. Foram identificadas associações genômicas de consenso nos cromossomos 2, posição 20,49 Mb (Mango_rep_c9407) e 9, posição 15,01 Mb (Mango_rep_c8984), com associação ($P<0,006$) para *N. parvum loci*, representando 20,6% da resistência total para este fungo.

Palavras chave: *Mangifera indica*, melhoramento genético, herança, GWAS

ABSTRACT

Mango (*Mangifera indica* L.) is an economically and nutritionally important tropical and subtropical fruit crop and anthracnose caused by the fungi *Colletotrichum siamense*, *Lasiodiplodia theobromae* and *Neofusicoccum parvum* is one of the limiting factors in its production. Therefore, the objective of the present study was to select progenies and estimate the inheritance of resistance to anthracnose caused by the fungus *Colletotrichum siamense*, and to find SNP and microsatellite markers associated with resistance to *Neofusicoccum parvum* and *Lasiodiplodia theobromae* in mango trees. In the first study, resistance to anthracnose was evaluated in 'Haden', 'Keitt' and 'Tommy Atkins' cultivars and studied the genetic control of resistance and heritability in populations obtained from crosses between 'Haden' × 'Tommy Atkins' and 'Keitt' × 'Tommy Atkins'. For the evaluation of parental resistance and genetic control in populations, inoculation of the fungus was carried out in the young branches of the plant. For the estimation of the heritability parameter, the mixed model REML / BLUP method was used, as well as the Burton model (BM). For genetic control of resistance, the chi-square test was used in populations. Cultivars 'Keitt' and 'Haden' were resistant to the fungus *C. siamense*, while 'Tommy Atkins' was moderately susceptible. Resistance to anthracnose is of simple inheritance 15:1 conferred by recessive alleles with epistatic effect, for both 'Haden' × 'Tommy Atkins' and 'Keitt' × 'Tommy Atkins' populations. Inheritability by REML/BLUP 88% 'Haden' x 'Tommy Atkins' and 78% 'Keitt' x 'Tommy Atkins' and by MB 90%. In the second study, single polymorphism (SNP) and microsatellites data from 95 plants of the 'Haden' × 'Tommy Atkins' population were analyzed by allelic and genotypic association, linear (GLM) and mixed linear (MLM) models for *L. diplodia* and *N. parvum*. Consensus genomic associations were identified in chromosome 12, position 10.60 Mb (Mi_0096) and 1 (Mango_rep_c1316) position 14.67 Mb, with association ($P<0.0049$) to *L. theobromae* loci, representing 20% of the total variation. Additional regions identified on chromosomes 11 and 8 (positions 24.57 Mb and 9.34 Mb, respectively) by GLM and MLM explain 36% of the total variation for this disease. Consensus genomic associations were identified in chromosomes 2, position 20.49 Mb (Mango_rep_c9407) and 9, position 15.01 Mb (Mango_rep_c8984), with association ($P<0.006$) for *N. parvum* loci, representing 20.6% of resistance total for this fungus.

Keywords: *Mangifera indica*, genetic improvement, inheritance, GWAS

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1. Produção total de manga no Brasil (milhões de toneladas) nos anos de 2010 a 2019 (IBGE, 2019) e exportações brasileira de manga, em milhões de toneladas, no período de 2010 a 2019 (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2017, 2018; ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI E FRUTICULTURA, 2019, 2020).....	20
Figura 2. Produtividade de manga no Brasil (Kg ha^{-1}) no período de 2010 a 2019 (IBGE, 2019).....	20
Figura 3. Valores da exportação brasileira de manga, em milhões de U\$\$, no período de 2010 a 2019 (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2017, 2018; ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI E FRUTICULTURA, 2019, 2020).	21
Figura 4. Ciclo da antracnose em mangueira. As linhas sólidas e as linhas pontilhadas representam o ciclo da doença e a fenologia da planta, respectivamente (ARUZ, 2000).....	24

CAPÍTULO I - SELEÇÃO DE PROGÊNIES E HERANÇA DA RESISTÊNCIA A *Colletotrichum siamense* EM CRUZAMENTOS DE *Mangifera indica*

Figura 1. Ausência de sintomas de antracnose na cultivar ‘Keitt’ (A), presença de manchas necróticas na progénie HT42 ‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’ (B) e na cultivar ‘Tommy Atkins’ (C), e sintomas de necrose foliar e morte na progénie HT79 ‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’ (D).....	59
---	----

Figura 2. Média (%) de três avaliações para ausência de sintomas foliares causada por <i>Colletotrichum siamense</i> nas cultivares de manga ‘Keitt’, ‘Haden’ e ‘Tommy Atkins’. Cultivares seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Dunnet a 5% de probabilidade.....	60
--	----

CAPÍTULO II – ASSOCIAÇÃO GENÔMICA DA RESISTÊNCIA À MORTE DESCENDENTE EM UMA POPULAÇÃO PSEUDO F₂ DE MANGUEIRA

Figura 1. Plot de Manhattan para SNPs com associação para resistência a <i>Lasiodiplodia theobromae</i> em população pseudo-F ₂ de manga ‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’: (A) Linear (GLM), (B) Linear Misto (MLM).....	79
--	----

Figura 2. Plot de Manhattan para SNPs com associação para resistência a *Neofusicoccum parvum* em população pseudo-F₂ de mangueira de 'Haden' × 'Tommy Atkins': (A) Linear (GLM), (B) Linear Misto (MLM).....80

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULITO I- SELEÇÃO DE PROGÊNIES E HERANÇA DA RESISTÊNCIA A *Colletotrichum siamense* EM CRUZAMENTOS DE *Mangifera indica*

Tabela 1. Teste de qui-quadrado (χ^2) para segregação 3:1, 9:7, 13:3 e 15:1 para suscetibilidade e resistência a *Colletotrichum siamense*, em dois cruzamentos de mangueira 61

Tabela 2. Estimativas dos parâmetros genéticos por REML/BLUP para resistência a antracnose *Colletotrichum siamense* em *Mangifera indica* 63

Tabela 3. Valor genotípico, ganho genético (%) e acurácia de seleção com o melhor preditor linear não-viesado (BLUP) e avaliação de resistência em campo (ARC) em dois cruzamentos em mangueira 64

CAPITULI II – ASSOCIAÇÃO GENÔMICA DA RESISTÊNCIA À MORTE DESCENDENTE EM UMA POPULAÇÃO PSEUDO F₂ DE MANGUEIRA

Tabela 1. SNPs com associação estatística alélica e genotípica ($P<0,02$) para resistência a *Lasiodiplodia theobromae* em uma população de mangueira pseudo-F₂ de 'Haden' × 'Tommy Atkins' 76

Tabela 2. SNPs com associação estatística alélica ($P<0,007$) para resistência a *Neofusicoccum parvum* em uma população pseudo-F₂ de mangueira de 'Haden' × 'Tommy Atkins' 77

Tabela 3. SNPs com associação significativa* ($P>0,007$) e coeficiente de determinação (R^2) pelo Modelo Linear (GLM) e Modelo Linear Misto (MLM) para resistência a *Lasiodiplodia theobromae* em uma população pseudo-F₂ de mangueira 'Haden' × 'Tommy Atkins' 78

Atkins' 78

Tabela 4. SNPs com associação significativa* ($P<0,02$) e coeficiente de determinação (R^2) pelo Modelo Linear (GLM) e Modelo Linear Misto (MLM) para resistência a *Neofusicoccum parvum* em uma população pseudo-F₂ de mangueira 'Haden' × 'Tommy Atkins' pseudo-F₂ 78

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
**	Significativo
μL	Microlitros
χ^2	Qui- quadrado
AFLP	Amplified fragment lenght polymorphism
ARC	Avaliação resistência em campo
BA	Bahia
BDA	Batata-dextrose-ágar
BLUB	Método da melhor predição linear não-viesada
BOD	Biochemical Oxigen Demand
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CAPS	Cleaved Amplified Polymorphic Sequence
cM	Centimorgan
CP	Componentes principais
Croos1	Cruzamento um
Croos2	Cruzamento dois
CTAB	Brometo de cetiltrimetilamônio
dNTP's	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
FAO	Food and agriculture Organization United Nations
FAPESB	Fundaçao de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia
GG	Ganho genético
GLM	Modelo linear
GWAS	Genome-wide association studies
h_a^2	Herdabilidade no sentido amplo
HWE	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
iSSR	Inter Simple Sequence Repeats
ISSR	Inter Simple Sequence Repeats
Kg h^{-1}	Kilograma por hectare
LDA	Linkage disequilibrium analysis
MAS	Seleção assistida por marcadores
MB	Método de Burton
MG	Minas Gerais
Mit h^{-1}	Milhões de toneladas por hectare
mL	Mililitro
MLM	Modelo linear misto
Mm	Milimolar
ns	Não significativo
°C	Graus celsius
PBZ	Paclobutazol
PE	Pernambuco
QTL	Quantitative Trait Loci
RAC	Resistência a antracnose em campo
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
REML	Método da máxima verossimilhança restrita
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism

SNP	Single nucleotide polymorphism
SP	São Paulo
SSCP	Single-Strand Conformation Polymorphism
SSCP	Single Strand Conformation Polymorphism
SSR	Single sequence repeats
t/ha ⁻¹	Toneladas por hectare
US\$	Dólar
XVI	Dezesseis

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	17
1. REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
1.1 Origem, classificação botânica e importância econômica da mangueira (<i>Mangifera indica</i>).....	19
1.2 Antracnose na mangueira	22
1.3 Morte descendente e podridão peduncular	25
1.4 <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	25
1.5 <i>Neofusicoccum parvum</i>	26
1.6 Melhoramento genético da mangueira	27
1.7 Parâmetros genéticos	28
1.8 Controle genético em características morfoagronômicas	29
1.9 Marcadores moleculares	30
1.10 Mapa de ligações genéticas	32
1.11 Associação genômica ampla (GWAS)	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
CAPÍTULO I - SELEÇÃO DE PROGÊNIES E HERANÇA DA RESISTÊNCIA A <i>Colletotrichum siamense</i> EM CRUZAMENTOS DE <i>Mangifera indica</i>	53
INTRODUÇÃO.....	55
MATERIAL E MÉTODOS	57
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
CONCLUSÃO.....	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
CAPÍTULO II – ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA PARA RESISTÊNCIA À MORTE DESCENDENTE EM UMA POPULAÇÃO PSEUDO-F ₂ DE MANGUEIRA	70
INTRODUÇÃO.....	72
MATERIAL E MÉTODOS	73
RESULTADOS	76
DISCUSSÃO	80
CONCLUSÃO.....	83
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

INTRODUÇÃO GERAL

A mangueira, é uma espécie arbórea frutífera pertencente à família das Anacardiaceae e tem como centro primário de origem a região do Indo-Malaio, com distribuição natural ocorrendo desde o leste da Índia até as Filipinas (MUKHERJEE e LITZ, 2009). No Brasil, a introdução das primeiras variedades da mangueira ocorreu no século XVI pelos colonizadores portugueses. Segundo Ferreira et al. (2002), na década de 60 ocorreu uma segunda introdução com as variedades, oriundas da Flórida e Estados Unidos, impulsionando o mercado interno e externo, possivelmente devido essas variedades apresentarem boa adaptabilidade, regularidade de produção e boas propriedades organolépticas (MUKHERJEE e LITZ, 2009).

A manga é a uma das frutas fresca mais consumida mundialmente, sendo o seu cultivo uma das principais atividades no agronegócio frutícola brasileiro, com crescimento constante nos últimos anos (REETZ et al., 2015). O Brasil, ocupa a sétima posição no ranking mundial de produção da fruta, com quase 1,3 milhões de toneladas colhidas em uma área de 65 mil hectares em 2018 (IBGE, 2019), sendo a região Nordeste responsável por 76% de toda a produção do país. Em relação à exportação, em 2018, o Brasil exportou 170,5 mil toneladas da fruta, alcançando US\$ 177,3 milhões com a venda da fruta. A região semiárida do Vale do Rio São Francisco, dos estados da Bahia e Pernambuco, é responsável por 87% de toda a exportação brasileira (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2018).

As doenças causadas por fungos e bactérias são fatores que podem afetar negativamente, ou mesmo inviabilizar, a produção da manga, principalmente para a exportação, uma vez que desqualificam o fruto (TERAO; BATISTA; RIBEIRO, 2016). Dentre as principais doenças da mangueira destacam-se a antracnose causada por fungos do gênero *Colletotrichum* e a morte descendente e/ou podridão peduncular, ocasionada por fungos pertencentes a família Botryosphaeriaceae. Para a mangueira, essas doenças mostram-se preocupantes, devido à capacidade de os fungos danificarem toda a planta, podendo comprometer ramos, folhas, panículas (flores) e frutos (TERAO; BATISTA; RIBEIRO, 2016).

O melhoramento da mangueira iniciou no Brasil na década de 70, tendo como principais objetivos: alta produtividade, frutos de boa qualidade, resistência às principais pragas e doenças, melhoria do porte da planta (porte anã) e cultivares poliembriônicas (para qualidade de porta enxerto). Por exemplo, o programa de melhoramento da

Embrapa desenvolveu e recomendou as cultivares Roxa Embrapa 141, Alfa Embrapa 142, Lita, Beta e BRS Ômega (PINTO et al., 2007).

Apesar do lançamento dessas cultivares, os programas de melhoramento para à mangueira enfrentam dificuldades em alcançar seus objetivos de forma ágil, devido ao longo período juvenil, autoincompatibilidade, entre outros aspectos. Mesmo com essas dificuldades, na literatura são relatados trabalhos sobre diversidade genética, caracterização de frutos, identificação do tipo embrionário, confirmação de híbridos, estimativa de taxa de polinização e mapeamento genético para características qualitativas (KUHN et al., 2017; SHERMAN et al., 2015; SANTOS e NETO, 2011). Esses estudos evidenciam a abordagem de diferentes recursos para se chegar ao objetivo final, desde a utilização dos métodos de melhoramento clássico, a exemplo da caracterização morfológica, bem como a combinação dos métodos clássicos com as ferramentas biotecnológicas, com a aplicação de marcadores moleculares para realização do mapeamento de genes associados a características morfoagrônomicas. Vale lembrar que estes estudos do controle genético para resistência à antracnose em mangueira, bem como *loci* associados a morte descendente são inexistentes para a cultura.

Diante disso, o objetivo do presente estudo foi selecionar progêneres e estimar a herança da resistência para antracnose causada pelo fungo *Colletotrichum siamense* e, encontrar marcadores SNPs e microssatélites associados à resistência para *N. parvum* e *L. theobromae* em mangueira.

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Origem, classificação botânica e importância econômica da mangueira (*Mangifera indica*)

A mangueira (*Mangifera indica* L., 2n=2x=40), é uma espécie originária da região Indo-Malaio, principalmente da parte oriental da Índia, sendo um dos frutos de origem tropical mais apreciado no mundo (DUVAL et al., 2005). No Brasil, as primeiras variedades cultivadas de mangueira foram introduzidas pelos navegantes portugueses no século XVI (CARVALHO et al, 2004). A mangueira é uma espécie cultivada nas mais diversas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Pertence à classe das dicotiledôneas, ordem Sapindales, família das Anacardiaceae e ao gênero *Mangifera*, que possui, aproximadamente, 60 espécies, destacando-se a *M. indica* (SANTOS-SEREJO, 2005; PINTO, 2004), possivelmente, devido ao sabor agradável. O período juvenil da mangueira varia de 3 a 7 anos, podendo ultrapassar 40 metros de altura quando atingir a fase adulta, e permanecer em pomares por centenas de anos (MUKHERJEE e LITZ, 2009).

A Índia destacasse como produtor mundial de manga, com cerca de 19,5 milhões de toneladas de produção da fruta por ano, enquanto, o Brasil ocupa a sétima posição (FAO, 2018). De acordo com a Produção Agrícola Municipal (IBGE, 2019), o Brasil produziu 1,319 milhões de toneladas da fruta em 2018. As regiões Nordeste e Sudeste foram responsáveis por 76% e 23%, respectivamente, da produção brasileira de manga no ano de 2018. No Nordeste, os estados da Bahia e do Pernambuco, juntos, produziram 67% das frutas da mangueira (IBGE, 2019). As microrregiões das cidades de Petrolina-PE e Juazeiro-BA foram os maiores produtores em 2017 (CEPEA, 2018).

A produção de manga no Brasil tem apresentado estabilidade nos últimos dez anos, em torno de 1.100 milhões de toneladas, com exceções de 2015, 2018 e 2019, quando a produção foi de 976, 1.319 e 1.414 milhões de toneladas (Figura 1) (IBGE, 2019). A produtividade da mangueira também apresenta estabilidade ao longo dos últimos dez anos, em torno de $16.200 \text{ kg ha}^{-1}$, com tendência de crescimento nos anos de 2016 a 2019, atingindo $21.007 \text{ kg ha}^{-1}$ em 2019 (Figura 2) (IBGE, 2019).

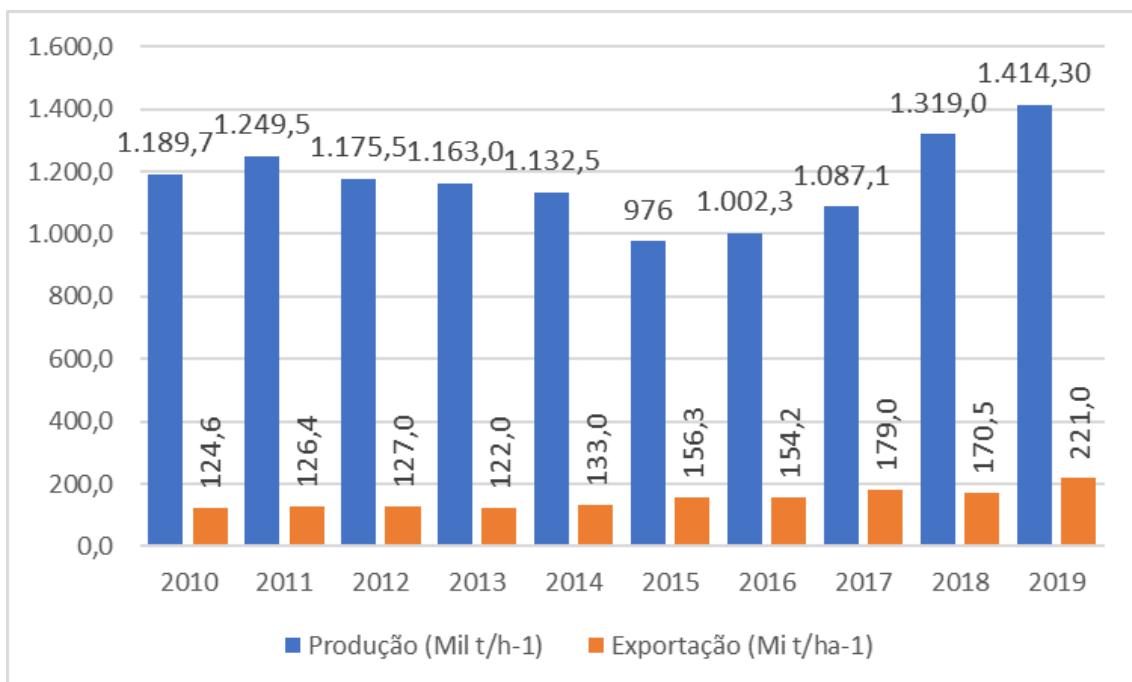


Figura 1. Produção total de manga no Brasil (milhões de toneladas) nos anos de 2010 a 2019 (IBGE, 2019) e exportações brasileira de manga, em milhões de toneladas, no período de 2010 a 2019 (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2017, 2018; ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI E FRUTICULTURA, 2019, 2020).

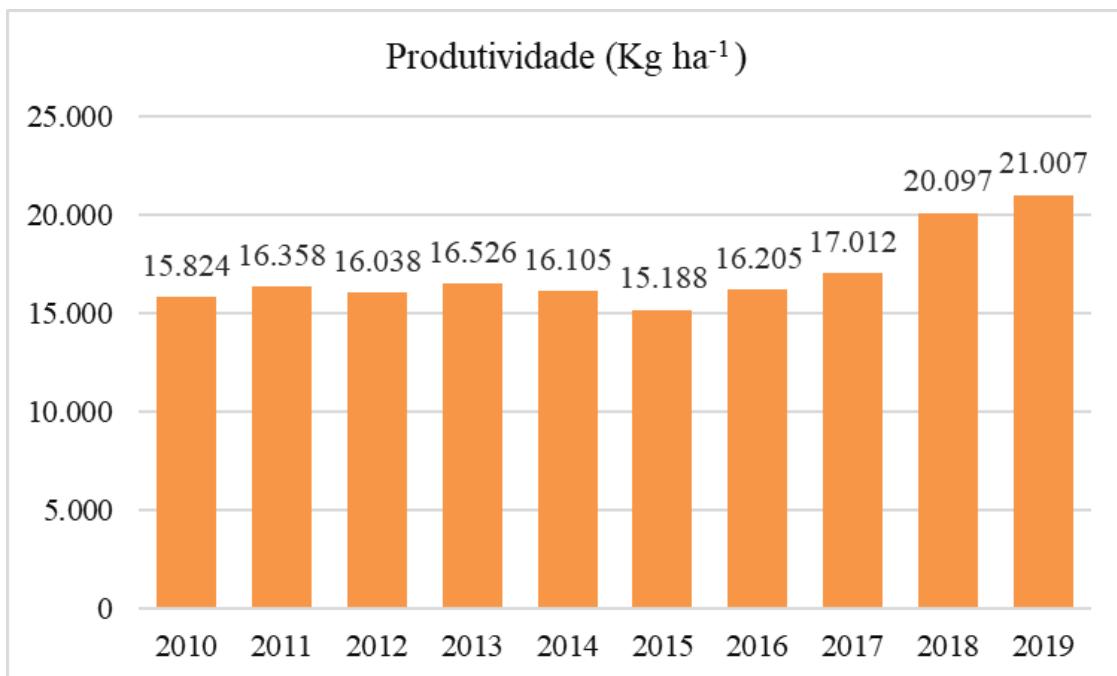


Figura 2. Produtividade de manga no Brasil (Kg ha⁻¹) no período de 2010 a 2019 (IBGE, 2019).

A manga é responsável por gerar um dos maiores volumes de frutas exportadas no país. No período de 2010 a 2014 o Brasil apresentou estabilidade em torno de 125 milhões de toneladas, ocorrendo elevação acentuada no período de 2015 a 2019, alcançando 221,0 milhões de toneladas em 2019 (Figura 1) (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2017, 2018; ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI E FRUTICULTURA, 2019, 2020). O valor das exportações de manga apresentou crescimento no período de 2010 a 2015, atingindo 184,3 milhões de US\$ em 2015 (Figura 3). Nos anos de 2016 a 2019 os valores de exportações apresentaram oscilações, sendo que em 2019 apresentou recorde de 227,9 milhões de US\$ (Figura 3) (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2017, 2018; ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI E FRUTICULTURA, 2019, 2020).



Figura 3. Valores da exportação brasileira de manga, em milhões de U\$\$, no período de 2010 a 2019 (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2017, 2018; ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI E FRUTICULTURA, 2019, 2020).

No Brasil, as áreas plantadas com a cultura de manga estão concentradas em poucas cultivares, ‘Haden’, ‘Keitt’, ‘Palmer’, e, especialmente, ‘Tommy Atkins’ (CARVALHO et al., 2004; KNIGHT et al., 2009), sendo que a área de produção destinada à exportação está concentrada com os cultivares ‘Palmer’ e ‘Tommy Atkins’, visando o consumo *in*

natura da fruta (BASSOS et al., 2018). Esse último cultivar apesar de ser suscetível à malformação floral e ao colapso interno do fruto (FONSECA e SCANAVA JUNIOR, 2008), apresenta sabor agradável, atendendo à uma das exigências dos consumidores. No entanto, a utilização desses dois cultivares reduz a base genética da cultura e, possivelmente, impacte na grande suscetibilidade dos genótipos atuais a uma diversidade de patógenos.

A maior produção do Brasil concentra-se nas regiões do Vale do São Francisco, Livramento de Nossa Senhora e Dom Basílio (BA), em algumas regiões de São Paulo e no Norte de Minas Gerais. Nos cultivos da região de Petrolina-PE e Juazeiro-BA, a `Palmer` concentra 50% da área, seguida da Tommy Atkins com 30% e o restante dividido com os cultivares Keitt e Kent. Nas cidades de Livramento de Nossa Senhora e Dom Basílio-BA, a área plantada está concentrada com os cultivares Palmer (70%), Tommy Atkins (28%) e os outros 2% distribuído entre as demais cultivares Rosa, Espada, entre outras. Em São Paulo, nas cidades de Monte Alto e Taquaritinga, o cultivar Palmer representa 50% da área plantada, enquanto a Tommy Atkins representa 30% e os cultivares Rosa, Espada, entre outras, respondem por 20%. (CEPEA, 2018).

Nas cidades de Valparaíso-SP e Mirandópolis-SP o plantio está concentrado em apenas dois cultivares: Palmer (60%) e Haden (40%). No estado de Minas Gerais, a Palmer representa 99% da área plantada e apenas 1% está destinada aos cultivares Keitt e Kent (PALMIERE, 2018). Desse modo, é possível observar que o cultivar Palmer é a preferida pelos produtores, possivelmente, devido ao fato de ser uma variedade tardia, com maior aceitação no mercado interno, apresentar boa conservação pós-colheita, excelente potencial para exportação, polpa de coloração amarela, firme e de pouca fibra (PINTO; COSTA; SANTOS et al., 2002).

1.2 Antracnose na mangueira

A mangueira é uma frutífera suscetível a uma grande diversidade de doenças causadas por fungos e bactérias, que podem não só limitar a sua produção, bem como comprometer a qualidade dos frutos, atributo de grande importância (SILVA et al., 2002). Dentre as doenças que acometem a cultura pode-se destacar a antracnose, causada pelo gênero *Colletotrichum* (RIBEIRO, 2005; TAVARES, 2002).

A antracnose é uma doença que ocorre na maioria das regiões produtoras de manga. Os sintomas aparecem em partes da planta, como folhas jovens, causando deformações

que as retorcem, além de necroses e formação de uma crosta, com rupturas na porção lesionada. Nos frutos, o patógeno permanece latente e normalmente manifestam sintomas depois de colhidos, durante o processo de amadurecimento, na forma de manchas escuras, levemente deprimidas e em geral arredondadas (TERAO; BATISTA; RIBEIRO, 2016).

Segundo Aruz (2000), a antracnose da mangueira é mais virulenta em altas temperaturas e alta umidade, atingindo uma incidência de quase 100% em frutos produzidos em condições muito úmidas. Além disso, Lima et al. (2015) constataram que as lesões causadas pelo gênero *Colletotrichum* eram maiores nas temperaturas entre 25°C e 30°C quando comparado a temperatura de 10°C. Isso significa que existe maior ocorrência e atividade do fungo em países tropicais e subtropicais, sugerindo a necessidade de utilização de métodos de controle da doença, que na maioria dos casos é realizada com a utilização de agentes fúngicos, resultando no aumento dos custos de produção da fruta (DOOD et al., 1992).

Descrito primeiramente por Corda (1831), o gênero *Colletotrichum*, pertence à família Glomerellaceae. Fungos do gênero *Colletotrichum* englobam espécies endofíticas, empífiticas, saprófitas e fitopatogênicas (HEYDE et al., 2009). Perfect et al. (1999) e O'Connel et al (2012), descreveram a infecção do hospedeiro da seguinte forma: i) os acérvulos depositados nos tecidos infectam o hospedeiro por meio de uma breve fase biotrófica, fase associada com a produção de uma grande hifa intracelular primária que pode infectar as células sem causar sua morte, ii) o fungo sofre uma transição para a fase necrotrófica, a qual está associada a pequenas hifas secundárias, as quais se espalham através do tecido do hospedeiro, causando lesões necróticas (Figura 4).

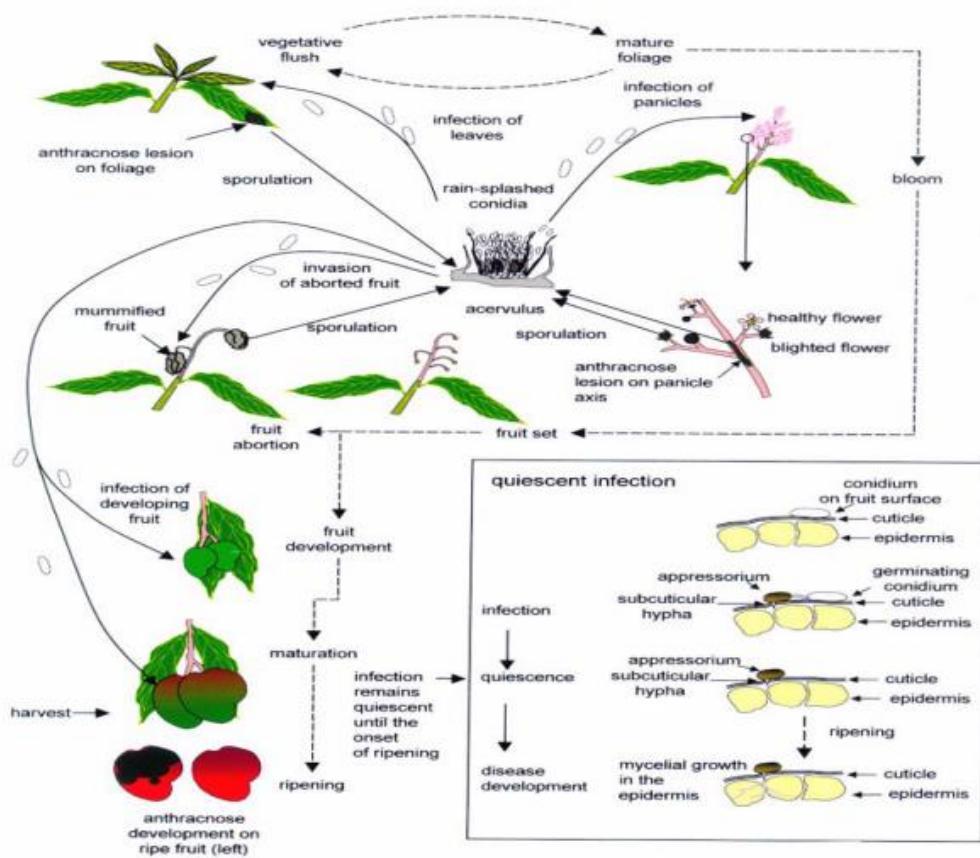


Figura 4. Ciclo da antracnose em mangueira. As linhas sólidas e as linhas pontilhadas representam o ciclo da doença e a fenologia da planta, respectivamente (ARUZ, 2000).

É comum a ocorrência de uma única espécie de *Colletotrichum* atacando diversos hospedeiros e mais de uma espécie associada a um mesmo hospedeiro (FREEMAN et al., 1998), como no caso da mangueira que é acometida por diversas espécies do gênero *Colletotrichum*. O *C. gloesporioides* é considerado o principal agente causal de antracnose na mangueira (SANTOS FILHO e MATOS., 2003; FISCHER et al. 2005) e, em menor frequência, *C. acutatum* (RIVERA-VARGAS et al., 2006; SOUZA et al., 2013).

No Nordeste brasileiro, outras espécies de *Colletotrichum*, como *C. cliviae*, *C. dianesei*, *C. endomangiferae*, *C. fruticola*, *C. tropicale* e *C. karstii*, estão associadas a esta doença (LIMA et al., 2013; VIEIRA et al., 2014). A espécie *C. asianum* foi relatada ocasionando sintomas de antracnose no Brasil, Austrália, Panamá, Filipinas Colômbia, Japão e Tailândia (WEIR et al., 2012; LIMA et al. 2013; LIMA et al., 2015; PARDO-DE LA HOZ et al., 2016). Já as espécies *C. simmondsii* e *C. fioriniae* foram relacionadas a

antracnose em mangueira na Austrália (DAMM et al., 2012), *C. siamense* na Malásia, México, China e Índia (LI et al., 2019; TOVAR-PEDRAZA et al., 2019; LIU et al., 2017; SHARMA et al., 2013).

Para o controle da doença, o método mais utilizado é o uso de fungicidas, aplicados antes do desenvolvimento dos frutos (pré-colheita) (JOHNSON e HOFMAN, 2009) e, na pós-colheita, com o tratamento dos frutos com fungicidas, associados ao tratamento térmico (RIBEIRO, 2005; PLOETZ, 2010). No entanto, os fungicidas de maior aceitabilidade não são muito eficazes (SOUZA, 2011) e, outros não são aceitos em outros países, como por exemplo, Estados Unidos (AKEM, 2006; PLOETZ, 2010). A aplicação de produtos não registrados para a cultura pode acarretar na perda do registro de exportação (ANVISA, 2016).

1.3 Morte descendente e podridão peduncular

A morte descendente e a podridão peduncular são causadas por espécies de Botryosphaeraceae, e representam importantes doenças que acometem a mangueira no Nordeste brasileiro, sendo que nos pomares irrigados do semiárido brasileiro as espécies associadas à morte descendente, que ocorrem com maior frequência, são *Lasiodiplodia theobromae*, *Neofusicoccum aesculi* e *Neofusicoccum parvum* (COSTA et al., 2010; TERAO; BATISTA; RIBEIRO, 2016). Essas doenças foram registradas pela primeira vez no Brasil em 1991 (TAVARES; MENEZES; CHOUDHRY, 1991) e desde então, vêm aumentando de intensidade e importância no Nordeste brasileiro (BATISTA; BARBOSA; TERÃO, 2011; COSTA et al., 2010; MARQUES et al., 2013 a, b).

Fungos da família Botryosphaeraceae podem infectar toda a planta, como folhas, ramos, frutos, panícula e tronco. Em ramos verdes, as lesões são escuras, irregulares, não deprimida que avançam para o pecíolo e limbo foliar, ocasionando o secamento de todo o ramo e com o passar do tempo eles caem. Caso os ramos infectados não sejam retirados da planta, a infecção pode se espalhar para ramos mais velhos, tronco e até matar a planta (BATISTA; BARBOSA; TERAO, 2011). Quando a infecção incide nas panículas, ocorrem lesões escuras, abortamento de flores e frutos jovens. Nos frutos maduros a infecção causa uma podridão de aspecto mole e aquoso, fazendo os frutos perderem seu valor de mercado e qualidade para o consumo (RIBEIRO, 2005; BATISTA et al., 2016).

1.4 *Lasiodiplodia theobromae*

L. theobromae (Pat.) Griffon & Maublanc (sinônimo: Botryodiplodia theobromae Pat.) é um fungo cosmopolita, polífago e oportunista. É característico de regiões tropicais e subtropicais, sendo responsável por doenças em várias espécies frutíferas além da mangueira, ocasionando grandes perdas, tanto durante o cultivo como também em pós-colheita (FREIRE et al., 2004; FREIRE et al., 2011).

Lins et al. (2010) caracterizaram isolados de *L. theobromae* de tecidos de ramos, pecíolos e pedúnculos da mangueira que apresentavam sintomas de morte descendente. Segundo os mesmos autores, as colônias em meio de cultura apresentam coloração branca, tornando-se, posteriormente, cinza esverdeado a preto, com aspecto algodão. A análise estrutural dos picnídios, de conídios jovens, revelou ausência de septos, forma ovoide, hialinos e de parede delgada e dupla quando, e quando maduros são ovóides a elepsóides, pigmentados e apresentam um septo transversal, com estrias longitudinais e as paredes espessas. Quanto à dimensão dos conídios, apresentam tamanhos que variam entre 18-16 µm x 11-15 µm. Essas descrições foram reportadas por outros autores para a espécie (ALVES et al., 2008; BURGESS et al., 2006; PHILLIPS et al., 2008; PAVLIC et al., 2004; ZHOU e STANOSZ, 2001; PUNITHALINGAM, 1976).

Para o controle das doenças causadas por *L. theobromae* recomenda-se o manejo cultural e genético, devido às características ecológicas intrínsecas do fungo e à diversa gama de hospedeiro do fungo (LIMA et al., 2013; CARDOSO et al., 2006; TAVARES., 1995).

1.5 *Neofusicoccum parvum*

O fungo *N. parvum* é um parasita de plantas que pode sobreviver saprofiticamente em estruturas mortas e mantidas no campo como restos de culturas, como panículas, ramos, frutos e folhas. Possui distribuição mundial, tendo uma ampla gama de hospedeiros, sendo relatado pela primeira vez na cultura da mangueira em 2009 (COSTA et al., 2010).

O patógeno se caracteriza pela formação de um picnídio escuro, onde são produzidos os conídios que, quando jovens são hialinos e unicelulares, porém, quando maduros, se tornam, ocasionalmente, marrom claro, com 1-2 septos, com a célula mediana marrom escura e as duas extremidades mais claras (SLIPPERS e WINGFIELD, 2007). O patógeno possui esporos de formato ovoide a elíptico, com tamanhos de 21-15 µm x 4,5-6,0 µm. A colônia é formada inicialmente por um micélio aéreo cinza, tornando-se,

posteriormente, de coloração mais escura. O manejo cultural, como a limpeza das áreas removendo restos infectados da planta, bem como adubação e irrigação adequada e o controle de insetos são as medidas de controle recomendadas para o *N. parvum*. (BATISTA et al., 2016).

1.6 Melhoramento genético da mangueira

Os programas de melhoramento das instituições nacionais e internacionais de mangueira devem sempre atender às características de três segmentos: produtores, distribuidores e consumidores. Para o primeiro, características como produtividade, estabilidade de produção e facilidade no manejo, adaptada às condições climáticas e resistência a doenças se revestem de maior importância; para o segundo variedades que resistam ao manuseio e ao transporte são mais atraentes, enquanto que para os consumidores frutas de melhor qualidade como cor do fruto e sabor são os mais procurados (PINTO; LIMA NETO; GUIMARÃES, 2011).

Dentre os métodos utilizados para o melhoramento da mangueira, podem ser destacados: melhoramento de população, método de seleção recorrente, teste de progênie, hibridação intervarietal, seleção clonal, policruzamento, seleção entre populações de meio-irmãos (PINTO et al., 2007). Além dos métodos convencionais podem ser citados as ferramentas biotecnológicas: cultura de tecidos, indução de mutações e marcadores moleculares (FONSECA e SCANAVA JUNIOR, 2008). Por meio desse último é possível realizar a seleção assistida por marcadores (SAM), estimar diversidade genética para caracterização e manejo de bancos de germoplasma, auxílio em trabalhos de classificação botânica e filogenia, monitoramento de cruzamentos e teste de paternidade, mapeamento genético para características qualitativas e quantitativas, entre outros objetivos (FERREIRA e GRATTAPAGLIA. 1998).

Considerando o possível estreitamento da base genética na cultura da manga no Brasil, a Embrapa Cerrados, em parceria com a Embrapa Semiárido, Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Embrapa Meio-Norte e Embrapa Transferência de Tecnologia, além do Instituto Agronômico de Campinas-IAC, implementaram um programa de melhoramento para a cultura na década de 70, buscando desenvolver novas variedades de mangueira com características superiores ao da cultivar ‘Tommy Atkins’, resultando no lançamento de cinco cultivares: a ‘Roxa Embrapa 141’, ‘Alfa Embrapa 142’, ‘Lita’, ‘Beta’ e ‘BRS Ômega’ (PINTO et al., 2007).

Apesar do lançamento dessas cultivares, o melhoramento genético da mangueira apresenta inúmeros entraves durante o desenvolvimento de novos genótipos, tais como: i) longa fase juvenil, que pode durar de 3 a 7 anos; ii) exigência de grandes áreas para avaliar as populações híbridas, exigindo pessoas para manter essas áreas e avaliar as populações; iii) a poliembrionia; iv) baixas taxas de pegamentos de fruto por panícula (0,1%); v) alta taxa de heterozigosidade, dificultando a obtenção de populações F₂ e retrocruzamentos (BALLY et al., 2009), aliado ao baixo conhecimento da herdabilidade para a maioria das características morfoagrônomicas importantes (SCHNELL et al., 2006). Em contrapartida, a manutenção de indivíduos superiores ocorre por clonagem, principalmente por enxertia, sendo uma vantagem no melhoramento da mangueira. (PINTO et al., 2002).

1.7 Parâmetros genéticos

As estimativas dos parâmetros genéticos são importantes para o melhoramento genético, uma vez que disponibiliza informações sobre o tipo de ação dos genes em caracteres quantitativos, norteia qual o melhor método de seleção a ser adotado, possibilitando estimar o progresso esperado com a seleção (VENCovsky, 1969). Vale ressaltar que a estimativa da variância genética, das correlações e das herdabilidades, se revestem de maior importância durante a obtenção dos parâmetros genéticos (CRUZ e CARNEIRO, 2003), possivelmente, devido à inferência da maior contribuição dos efeitos genéticos ou ambientais sobre o caráter em estudo; as chances de um determinado caráter ser herdado pela descendência; bem como a melhoria de uma característica de interesse com base em outra (ROCHA, 2003), pois em programas de melhoramento objetiva-se melhorar os genótipos em várias características simultaneamente (CRUZ e REGAZZI, 2001).

A estimativa de parâmetros genéticos dentro dos programas de melhoramento de espécies perenes, busca a predição de valores genéticos aditivos e genotípicos para a seleção de indivíduos potenciais, seja com a seleção realizada a nível intrapopulacional ou interpopulacional (RESENDE e DIAS., 2000). No entanto, plantas perenes possuem alguns inconvenientes como o ciclo reprodutivo longo, sobreposição de gerações e o desbalanceamento (acarretado com a morte ao longo do tempo), associados aos dados de caracteres quantitativos, impedindo mensurações precisas. Por esse contexto, o procedimento REML (Método da máxima verossimilhança restrita) / BLUP (Método da

melhor predição linear não-viesada) apresenta vantagens em relação às metodologias tradicionalmente utilizadas, uma vez que pode ser aplicada a dados desbalanceados, corrige os dados para efeitos ambientais e prediz de maneira precisa e não-viesada os valores genéticos, não exigindo dados obtidos sob estruturas rígidas de experimentações (RESENDE, 2007).

O procedimento REML/BLUP vem sendo explorado com sucesso dentro dos programas de melhoramento genético de espécies perenes e semiperenes no Brasil. Assunção et al., (2015), ao utilizarem esse procedimento em maracujá-azedo, conseguiram selecionar indivíduos com maior qualidade de frutos; enquanto que Oliveira et al. (2004) conseguiram identificar a variabilidade genética entre progênies de umbuzeiro tendo como base a procedência dos indivíduos. Por meio do procedimento REML/BLUP também foi possível estimar parâmetros genéticos relativos ao desenvolvimento inicial de plantas de mangabeira em campo (GANGA et al., 2009).

1.8 Controle genético em características morfoagronômicas

Estudos voltados para o comportamento genético das características de interesse nas espécies vegetais são de grande relevância para os programas de melhoramento genético, pois possibilitam identificar se a herança do caráter em questão é simples (quando controlada por um ou dois genes), ou complexa (quando controlada por vários genes), além de identificar se as magnitudes dos efeitos são de aditividade, dominância ou epistasia (RAMALHO et al., 2008).

Antes de compor as populações que serão avaliadas no estudo de controle genético, é necessário que os genitores sejam homozigotos ou linhagens endogâmicas, e que apresentem diferença entre si para o caráter em questão (RAMALHO et al., 2008). Ainda segundo esses mesmos autores, para esse estudo podem ser utilizadas diferentes gerações (F_1 , F_2 , RC_1 e RC_2), sendo as mais comuns as gerações F_1 e F_2 , e que para um melhor entendimento das proporções fenotípicas, sempre que possível, é indicado a utilização dos retrocruzamentos.

Para adotar as abordagens de estudo genéticos na mangueira, os principais impedimentos são a longa fase juvenil e baixas taxas de cruzamento manual. No entanto, populações resultantes de cruzamentos entre parentais altamente heterozigóticos, em vários lócus, a população F_1 , pode ser explorada para estudos genéticos, como F_2 (FEHR, 1987). A estratégia de pseudo F_2 (F_1) foi explorada por Banerjee et al. (2012), em *Morus*

spp. Além deles, Parikh et al. (2016), em *Cornus florida* L e, por Arriel et al. (2016) e Coelho et al. (2018) em mangueira.

A maioria das espécies autógamas apresenta maior rapidez na obtenção de indivíduos homozigotos, por serem hermafroditas e ainda apresentarem cleistogamia (as estruturas femininas e masculinas se tornam viáveis simultaneamente e a polinização do estigma ocorre antes da abertura do botão floral ou antese), enquanto que as espécies alógamas apresentam dicogamia, que se divide em protandria (quando os grãos de pólen se tornam viáveis antes da estrutura feminina), ou protoginia (quando as estruturas femininas se tornam viáveis antes da masculina), necessitando de seis ciclos de autofecundações, buscando aumentar o nível de homozigose nos indivíduos (BUENO et al., 2013).

Uma vez obtidas as populações segregantes, o próximo passo é avaliar todas elas em campo e de forma simultânea. Quando obtidos os dados, é realizada a comparação das proporções fenotípicas esperadas e observadas, tendo como base a segregação esperada para o caráter em questão (RAMALHO et al., 2008). Frequentemente, tem se utilizado o teste do qui-quadrado para testar as hipóteses. Segundo Liu (1997), esse teste possibilita concluir a respeito do padrão predominante da segregação: se governada por um, dois ou mais genes e o tipo de interação predominante se de aditividade, dominância ou epistasia. Outra informação que deve ser levada em consideração é que as estimativas do controle genético de um caráter em uma determinada população são restritas a ela, e não devem ser consideradas iguais para outras populações ou outras condições experimentais.

1.9 Marcadores moleculares

Os marcadores moleculares nas últimas décadas têm auxiliado programas de melhoramento genético na redução do tempo de obtenção de novos genótipos, devido ao longo período requerido para execução das fases de melhoramento, principalmente quando se trata de plantas perenes, possibilitando acessar a nível de DNA informações que dizem respeito a diversidade genética, bem como para o mapeamento de regiões agronômicas de interesse (CAIXETA et al., 2009). Atualmente, tem se utilizado a associação de técnicas clássicas a ferramentas biotecnológicas, com o objetivo de aumentar a eficiência de seleção e caracterização de germoplasmas, bem como a maximização dos ganhos genéticos, visto que, os marcadores moleculares são

ferramentas auxiliares que não sofrem influência ambiental permitindo, aos melhoristas, a realização de estudos mais completos (SOUZA et al., 2014).

A utilização dessa ferramenta dependerá do objetivo do estudo, infraestrutura disponível, recursos financeiros, além de equipe técnica com treinamento qualificado (FALEIRO, 2007). Existe um grande número de marcadores moleculares disponíveis, como: Isoenzimas, RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA, RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SSR (Simple Sequence Repeat), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence), SSCP (Single-Strand Conformation Polymorphism), ISSR (Inter Simple Sequence Repeats), PCR-sequencing, além de marcadores baseados em retrotransposons, marcadores baseados em genômica funcional e SNP (Single Nucleotide Polymorphism).

Dentre esses marcadores os microssatélites têm sido amplamente utilizados, pois para cada loco tem-se grande conteúdo informativo, além de serem multi-alélicos e permitirem a diferenciação entre indivíduos homozigotos e heterozigotos, por isso são considerados marcadores codominantes, além de serem abundantes no genoma, fáceis de automatizar, robustos e de alta reprodutibilidade (TURCHETTO-ZOLET et al., 2017). Estes marcadores são repetições de um a seis nucleotídeos que se repetem em sequência (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998).

Além dos microssatélites, SNP é outro marcador bastante utilizado por identificar variações entre indivíduos em relação a um par de bases. Inicialmente descoberto no genoma humano, os SNPs provaram serem universais, bem como as formas mais abundantes de variação genética entre indivíduos da mesma espécie (GHOSH et al., 2002). Devido à sua natureza bi-alélica, tornam-se menos polimórficos comparado aos marcadores microssatélites, no entanto, possuem alta frequência, facilidade de automação e estabilidade (GUPTA e PRASAD, 2001). Esses marcadores caracterizam-se em variações de um único nucleotídeo (A, C, T ou G) na sequência do genoma, ou seja, refletem mutações ocorridas ao decorrer do tempo e que em sua maioria, foram eventos simples (GRIFFITHS et al., 2008), podendo ser classificadas essas mutações como transição ou transversões, dependendo do tipo de variação do nucleotídeo (FALEIRO, 2011). Esses polimorfismos podem ocorrer em regiões codificadoras ou com funções regulatória, porém na maior parte das vezes são encontrados em espaços intergênicos (RAFALSK, 2002).

Devido a essas especificidades, os marcadores microssatélites e SNPs têm sido os mais comumente utilizados em diversas culturas para a seleção e mapeamento de regiões genômicas associadas com genes e QTL (Quantitative Trait Loci) como em arroz (PINHEIRO et al., 2012), milho (TEIXEIRA et al., 2013), algodão (ZHANG et al., 2016), feijão-caipi (MUÑOZ-AMATRIAN et al., 2017) e mangueira (KUHN et al., 2017). Para essa última cultura, um mapa genético consenso atual foi construído a partir de marcadores SNPs (KUHN et al., 2017), utilizando mapa genético para identificar marcadores associados a características fenotípicas, como: tipo embrionário, hábito do ramo, floração, cor da casca e cor da polpa. No entanto, são escassos estudos para mapeamento a resistência a doenças em mangueira.

1.10 Mapa de ligações genéticas

Um mapa de ligações genéticas é a representação das posições relativas dos genes e dos marcadores genéticos nos cromossomos de uma espécie (MORGAN, 1911), ou seja, constitui-se no ordenamento e no estabelecimento da distância entre os marcadores genéticos e os genes (SCHUSTER e CRUZ, 2004). Um mapa genético possibilita a localização de genes, estudos de associação de genes a QTLs, cobertura e análise completa do genoma, além de informações a respeito da arquitetura genética, ligações gênicas e auxiliam no entendimento da história evolutiva das espécies (GARCIA et al., 2005).

Para a construção de um mapa genético é necessário atender às seguintes etapas: i) seleção de genitores contrastantes, uma vez que, o número de marcas no mapa representa o número de caracteres contrastantes nos genitores ii) obtenção das populações, as quais podem ser advindas por meio de retrocruzamentos, populações F₂ (autofecundação da F₁), linhagens puras recombinantes (RIL), linhagens de duplo-haploide e, no caso de espécies de polinização cruzada, cruzamento de indivíduos heterozigotos e iii) tipo de marcador a ser utilizado (CARNEIRO e VIEIRA, 2002, COLLARD et al., 2005, SEMAGN et al., 2006).

O próximo passo é a genotipagem da população destinada ao mapeamento. Vale lembrar que o marcador utilizado na genotipagem dependerá da infraestrutura laboratorial, tempo para a realização das atividades, dos softwares de bioinformática disponíveis. Por fim, os dados são analisados quanto à ligação. Na análise de ligação, cada marcador é testado para avaliar a conformidade aos padrões de segregação

mendeliana. As frequências de recombinação aos pares são calculadas entre os marcadores e testada a existência de ligação. Nos grupos de ligação são estabelecidos a distância estimada do mapa e a ordem. No mapeamento de ligação, a hipótese nula a ser testada é a ausência de ligação entre dois marcadores cuja frequência de recombinação (r) é de 50% ($H_0:r = 0,5$) (LIU, 1997; CARNEIRO e VIEIRA, 2002; WU et al., 2007).

Considerando os estudos de mapa gênico realizados para a cultura da mangueira, alguns mapas foram gerados. O primeiro foi construído por Chunwongse et al. (2000) utilizando marcadores moleculares RFLP e AFLP, para mapear 31 indivíduos de uma população F₁ (pseudo F₂), obtidos pelo cruzamento entre as cultivar Alphonso e Palmer. Kashush et al. (2001), desenvolveram o segundo mapa genético para mangueira utilizando 34 marcadores AFLP com base em 29 indivíduos de uma população F₁ (pseudo F₂), conseguindo abranger, apenas, 161,5 cM de comprimento do genoma. O terceiro mapa foi desenvolvido por (FANG et al. 2003) utilizando 81 marcadores AFLP, a partir de uma população composta por 60 indivíduos de uma população F₁ (pseudo F₂), com comprimento de 354,1 cM, com espaçamento médio entre marcador de 4,37 cM. O quarto mapa genético foi construído a partir de 60 indivíduos F₁ (pseudo F₂), aos quais foram mapeados por nove marcadores microssatélites SSR e 67 marcadores RFLP. Esse mapa abrangeu uma distância de 529,9 cM (CHUNWONGSE et al., 2015). No entanto, esses mapas foram desenvolvidos a partir de uma população de mapeamento relativamente pequena e/ou um número limitado de marcadores, resultando em baixa saturação do genoma.

Em 2016 foi desenvolvido o primeiro mapa genético considerado de alta densidade para a cultura da mangueira (LUO et al., 2016). O mapa foi construído a partir da genotipagem de 173 indivíduos utilizando 6.594 marcadores SLAF-seq, cobrindo 3148,28 cM, com distância média entre os marcadores adjacentes de 0,48 cM. Outro mapa foi desenvolvido por Kuhn et al. (2017) utilizando sete populações distintas totalizando 775 indivíduos, utilizando 726 marcadores SNPs dispostos nos 20 grupos de ligação. O mapa desenvolvido por LUO et al. (2016) possibilitou a montagem em larga escala do genoma de mangueira (WANG et al., 2020), fornecendo genoma de referência para a família das Anacardiaceae e estudos avançados, colocando a mangueira, definitivamente, dentro da era genômica.

1.11 Associação genômica ampla (GWAS)

O melhoramento genético tem proporcionado com sucesso o aumento da produtividade e a melhoria de características de interesse nas espécies de importância para a agricultura, sendo que muitos métodos surgiram ao longo dos anos no intuito de otimizar o processo de seleção de indivíduos mais promissores, ao passo que, com o desenvolvimento dos marcadores moleculares e o avanço das técnicas em biologia molecular, foi possível se chegar a informações genotípicas, obtidas por meio desses marcadores. Correlacionados com características fenotípicas de interesse, essas sequências podem ser amplamente utilizadas na identificação e seleção de indivíduos com maiores valores genéticos (RESENDE et al., 2013).

A associação genômica ampla (genome-wide association studies - GWAS), também conhecida como mapeamento de associação ou mapeamento do desequilíbrio de ligação, é uma das mais novas ferramentas tecnológicas que vem ganhando destaque. Esta é uma abordagem que envolve a busca por marcadores e suas associações com características fenotípicas ou QTLs para uma característica de interesse, sem utilizar uma população segregante biparental (KHAN e KORBAN, 2012). Esse método fundamenta-se no fato de que genótipos de uma mesma espécie herdam alelos semelhantes ao longo de sua evolução, e em contrapartida ao mapeamento tradicional, utiliza o princípio do desequilíbrio de ligação entre os marcadores para associar o fenótipo ao genótipo.

O desequilíbrio de ligação (“linkage disequilibrium analysis - LDA”) é a diferença entre a frequência alélica observada e esperada, assumindo-se a segregação independente, e pode acontecer entre loci no mesmo cromossomo ou entre loci de diferentes cromossomos. De modo geral, a GWAS consiste na associação de SNPs genotipados à uma variação causal não genotipada, podendo ser utilizado no mapeamento de QTLs como uma abordagem alternativa (KHAN e KORBAN, 2012, MIQUELONI; SIMEÃO; ASSIS, 2019). Este tipo de abordagem tem grande potencial para contribuição nos programas de melhoramento genético de planta arbóreas e frutíferas, devido ao longo período juvenil das plantas e as técnicas de melhoramento convencional e de seleção assistida demandarem uma manutenção onerosa de populações, caracterizando-se como métodos demorados e caros, além da identificação e posterior análise de alelos raros e variações raras.

Inicialmente foi muito utilizada no mapeamento de doenças em humanos, identificando SNPs relacionados a diabetes, Parkinson, entre outras doenças. Hoje, com o avanço das tecnologias de sequenciamento, a associação genômica também tem sido

aplicada em plantas, a exemplo de culturas como trigo (ARORA et al., 2017), arroz (QUERO et al., 2018), sorgo (MORRIS et al., 2013), milho (XIAO et al., 2017), soja (ZHANG et al., 2015), eucalipto (MÜLLER, 2019), árvores frutíferas (IWATA, 2016), para seleção de várias características de importância econômica.

As principais vantagens do mapeamento de associação, segundo Aranzana et al. (2005) são: 1) facilidade na coleta de dados, pois não existe a necessidade de condução de populações experimentais e 2) maior resolução que um mapa de ligação, pois a quantidade de haplótipos diferentes dentro da população reflete a ação da recombinação ao longo de várias gerações. Brachi et al. (2011) destacaram que a GWAS supera as limitações do mapeamento tradicional, como a baixa diversidade alélica, gerando mapas de alta resolução e associação entre variações genotípicas e fenotípicas em populações já estudadas.

A evolução da GWAS está diretamente relacionada com os avanços da tecnologia de sequenciamento dos SNPs, que são os marcadores favoritos para a genotipagem de árvores, de acordo com Khan e Korban (2012), devido a sua abundância no genoma, disponibilidade de resequenciamento e genotipagem de alto rendimento. Inicialmente, o sequenciamento de SNPs se baseava no método Sanger, porém com o avanço das tecnologias de Next Generation Sequencing (NGS), à exemplo do Roche 454 (MARGULIES et al., 2005), Solexa-Illumina (BENNETT, 2004) e ABI Solid (VALOUEV et al., 2008) a genotipagem desses marcadores tornou-se mais rápida e acessível aos projetos de pesquisa, apesar de ainda onerosa. Para captar a variabilidade genética presente na população de indivíduos não parentados necessita-se de uma genotipagem com elevado número de marcadores, alta resolução e alto rendimento (VOSS-FELS e SNOWDON, 2016). Segundo Gupta e Kour (2019), existem novas aplicações à utilização da GWAS: i) uso de perfis de expressão, resequenciamento (utilizando NGS), epigenômica, etc, ii) uso de estatísticas de resumo GWAS para GWAS condicional, identificação de SNPs causais, priorização entre marcadores associados e identificação de genes candidatos (para anotação de gene).

Um mapa de associação pode ser estimado por diferentes abordagens estatísticas, sendo que a escolha do método deve ser baseada no volume de dados a ser analisado, velocidade de análise necessária e facilidade de utilização do software (GUPTA e KOUR, 2019). Yu et al. (2006) propuseram o primeiro modelo misto para GWAS, e que posteriormente se tornou o método estatístico mais utilizado. Eles utilizaram um modelo

misto unificado e obtiveram sucesso em reduzir o número de associações espúrias (associações falsas) em estruturas populacionais complexas. Nos modelos mistos utilizam-se os indivíduos como efeitos aleatórios para contar como parentesco e assim evitar as associações espúrias (O'CONNOR et al., 2020).

Gondro et al. (2013), revisaram alguns métodos estatísticos na GWAS e mapeamento de QTL como a regressão de marcador simples e análise de intervalo de confiança. Na regressão de marcador simples é utilizado um modelo aditivo com o efeito de um único marcador como efeito fixo, a fim de sustentar a suposição de que o marcador só afetará o QTL se eles estiverem em desequilíbrio de ligação. Neste caso a hipótese nula é que não há efeito do marcador sobre o caráter estudado e a hipótese nula pode ser aceita ou rejeitada, de acordo com o valor de F e o nível de significância adotados. Para se trabalhar com intervalos de confiança, inicialmente a metodologia é a mesma, a diferença é que o conjunto de dados é dividido ao meio e a análise é feita para cada grupo separadamente, caso haja a associação significante de um SNP em relação à análise feita com os dados completos, estimando-se o intervalo de confiança.

Métodos mais modernos têm sido aprimorados para suprir a demanda pela maior disponibilidade de SNPs para GWAS. Gupta et al. (2019) descreveram alguns destes, como os modelos mistos single-locus, single trait (SLST) e os multi-locus and multi-trait mixed (MLMM e MTMM). Os SLST são métodos mais antigos e podem ser divididos em métodos exatos e métodos por aproximação, a diferença entre esses dois grandes grupos é a rapidez da computação dos dados e o teste de significância. Os MLMM e MTMM são capazes de avaliar múltiplos loci e levam em consideração os efeitos pleiotrópicos (BUZDUGAN et al., 2016).

Lal et al. (2017), estudaram associação para dezessete características de importância para a mangueira, usando as abordagens do modelo lineares (GLM) e lineares misto (MLM). A análise de associação realizada com o GLM identificou 23 marcadores SSR gênicos associados a 13 características pomológicas diferentes, mas apenas cinco marcadores gênicos foram associados a seis características pomológicas diferentes pelo modelo MLM. Os alelos A e C dos locos MSRRR 190 foram associados ao diâmetro do fruto, relação polpa: caroço e peso do fruto, e o alelo B dos locos MSSR 146 foi associado ao comprimento e largura por ambas abordagens GLM e MLM. Na literatura ainda não há trabalhos de associação genômica desenvolvidos para resistência a doenças na cultura da mangueira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKEM, C. N. Mango anthracnose disease: presente status and future research priorities. *Plant Pathology Journal, Faislabad*, v. 5, n. 3, p. 266-273, 2006.
- ALVES, A.; CROUS, P. W.; CORREIA, A.; PHILLPS, A. J. L. Morphologycal and molecular data reveal cryptic speciation in Lasiodiplodia theobromae. *Fungal Diversity*, v. 28, p. 1-13, 2008.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA. CARVALHO, C et al. Santa Cruz do Sul: **Editora Gazeta Santa Cruz**, 2017. 88 p.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA. Kist, B. B. et al. Santa Cruz do Sul: **Editora Gazeta Santa Cruz**, 2018. 88 p.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI E FRUTICULTURA. CARVALHO, C. et al. Santa Cruz do Sul: **Editora Gazeta Santa Cruz**, 2020, 96 p.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI E FRUTICULTURA. Kist, B. B. et al. Santa Cruz do Sul: **Editora Gazeta Santa Cruz**, 2019. 96 p.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC Nº 60, de 3 fevereiro de 2016: dispõe sobre a proibição da utilização do ingrediente ativo Prochloraz em produtos agrotóxicos, em decorrência da sua reavaliação toxicológica, e dá outras providências.** Disponível em: < https://www.in.gov.br/materia-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/22301726/do1-2016-02-05-resolucao-rdc-n-61-de-3-de-fevereiro-de-2016-22301384>. Acesso em: 20 jan. 2021.
- ARANZANA, M. J.; KIM, S.; ZHAO, K.; BAKKER, E.; HORTON, M.; JAKOB, K.; LISTER, C.; MOLITOR, J.; SHINDO, C.; TANG, C.; TOOMAJIAN, C.; TRAW, B.; ZHENG, H.; BERGELSON, J.; DEAN, C.; MARJORAM, P.; NORDBORG, M. Genome-wide association mapping in Arabidopsis identifies previously known flowering time and pathogen resistance genes. *PLoS genetics*, v. 1, n. 5, 60p, 2005.
- ARORA, S.; SINGH, N.; KAUR, S.; BAINS, N. S.; UARY, C.; POLAND, J.; CHHUNEJA, P. Genome-wide association study of grain Architecture in wild wheat Aegilops tauschii. *Plant Science*, v. 8, p. 886, 2017.

- ARRIEL, D. A. A.; GUIMARÃES, L. M. S.; RESENDE, M. D. V.; NETO, F. P. L.; SILVA, D. F. S. H. S.; SIQUEIRA, D. L.; ALFENAS, A. C. Genetic Control of Resistance on *Mangifera indica* to *Ceratosystis* Wilt. **Scientia Horticultura**, v. 211, p. 312-318, 2016.
- ARUZ, L. F. Mango anthracnose: economic impact and current options for integrated and management. **Plant Disease**, Sherman Cour, v. 84, n. 6, p. 600-611, 2000.
- ASSUNÇÃO, M. P.; KRAUSE, W.; DALLACORT, R.; SANTOS, P. R. J. dos; NEVES, L. G. Seleção individual de plantas de maracujazeiro azedo quanto à qualidade de frutos via REML/BLUP. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 2, p. 57-63, 2015.
- BALLY, I. S. E.; LU, P.; JOHNSON, P.R. **Mango breeding**. In: JAIN, S. M, PRIYADARSHAN, P. M (Eds), Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species. Springer, New Yor, p. 51-82, 2009.
- BANERJEE, R.; DAS, N. K.; DOSS, S. G.; SAHA, A. K.; BAJPAI, A. K.; BINDRO, B. B. Narrow sense heritability estimates os bacterial leaf spot resistance in pseudo F2 (F1) population of mulberry (*Morus spp.*) **Eur Journal Plant Pathology**, v. 133, p. 537-544, 2012.
- BASSOS, J. P.; FALEIRO, F. G.; OLIVEIRA, J. da S.; GUIMARÃES, T. G.; BRAGA, M. F.; FONSECA, K. G. da; JUNQUEIRA, N. T. V.; LIMA NETO, F. P. Variabilidade genética de cultivares e híbrido elite de mangueira com base em marcadores moleculares. **Centro de Pesquisa do Cacau**, v. 30, n. 1, p. 49-56, 2018.
- BATISTA, D. C.; BARBOSA, M. A. G.; TERAO, D. Epidemiologia e manejo de fungos associados com morte descendente e podridão peduncular em mangueira. In: Congresso Brasileiro Brasileiro de Fitopatologia, Bento Gonçalves, Brasil. **Resumos... Tropical Plant Pathplogy**, Brasília, v. 36, p. 35-36, 2011.
- BATISTA, D. C.; RIBEIRO JUNIOR, P. M.; BARBOSA, M. A. G.; ANDRADE, J. N.; TERAO, D. **Manejo de doenças de fruteiras tropicais**: In: Doenças da mangueira. Informe Agropecuário, Belorizonte, v. 37, n. 290, p. 82-91, 2016.
- BENNETT, S. Solexa Itd. **Pharmacogenomics**, v. 5, n. 4, p. 433-438, 2004.
- BRACHI, B.; MORRIS, G. P.; BOREVITZ, J. O. Genome-wide association studies in plants: the missing heritability is in the field. **Genome biology**, v. 12, n. 10, p. 1-8, 2011.

- BUENO, L. C. de S. **Melhoramento genético de plantas: Princípios e procedimentos.** (Ed.). Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2013. 319 p.
- BURGESS, T. I.; BARBER, P. A.; MOHALI, S.; PEGG, G.; BEER, W.; WINGFELD, M. J. Three new *Lasiodiplodia*, spp from the tropics, recognized based on DNA sequence comparisons and morphology. **Mycologia**, v. 98, n. 3, p. 423-435, 2006.
- BUZDUGAN, L.; KALISCH, M.; NAVARRO, A.; SCHUNK, D.; FEHR, E.; BUHLMANN, P. Assessing statiscal significance in multivariable genome wide association analysis. **Bioinformatic**, v. 32, n. 13, p. 1990-2000, 2016.
- CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B. de; BRITO, G. G. de; SAKUYAMA, N. S. Tipos de marcadores moleculares. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. (ed) **Marcadores moleculares**. UFV, Viçosa, p. 11-94, 2009.
- CARDOSO, J. E.; BEZERRA, M. A.; VIANA, F. M. P.; SOUSA, T. R. M.; CYSNE, A. Q.; FARIA, F. C. Ocorrência endofítica de *Lasiodiplodia theobromae* em tecidos de cajueiro e sua transmissão por propágulos. **Summa Phytopathologica**, Bootucatu, v. 35, n. 4, p. 262-266, 2009.
- CARDOSO, J. E.; PAIVA, J. R.; CAVALCANTI, J. J. V.; SANTOS, A. A.; VIDAL, J. C. Evaluation of resistance in dwarf cashew to gummosis in northeastern Brazil. **Crop Protection**, Kent, v. 25, p. 855-859, 2006.
- CARNEIRO, M. S.; VIEIRA, M. L. C. **Mapas genéticos em plantas**. Bragantia, Campinas, v. 61, p. 89-100, 2002.
- CARVALHO, C. R. L.; ROSSETTO, C. J.; MANTOVANI, M. B.; MORGANO, M. A.; de CASTRO, J. V.; BORTOLETTO, N. Avaliação de cultivares de mangueira selecionadas pelo instituto agronômico de Campinas comparadas a outras de importância comercial. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 26, n. 2, p. 264-271, 2004.
- CEPEA. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2018. **Banco de dados: preços médios dos hortifrutícolas**. Disponível em:<<https://www.hfbrasil.org.br/br/banco-de-dados-precos-medios-dos-hortifruticolas.aspx>>. Acesso em: 21 jan. 2021.
- CHUNWONGSE, C.; PHUMICHAI, C.; TONGYOO, P.; JUEJUN, N.; CHUNWONGSE, J. Development of di-nucleotide microsatellite markers and

- construction of genetic linkage map in mango (*Mangifera indica* L.). Songklanakarin. **Science Technology**, v. 37, p. 119-127, 2015.
- CHUNWONGSE, J.; PHUMICHAI, C.; BARBRASERT, C.; SUKONSAWAN, S.; BOONREUNGRAWD, R.; BARBRASERT, C. Molecular mapping of mango cultivars ‘Alphonso’ and ‘Palmer’. **Acta Horticulture**, v. 509, p. 193-206, 2000.
- COELHO, W. C. P.; SANTOS, C. A. F; BATISTA, D. C. Inheritance of resistance to dieback disease in mango (*Mangifera indica*). **Australian Journal of Crop Science**, v. 12, n. 13, p. 467-471 (Online), 2018.
- COLLARD, B. C. Y.; JAHLFER, M. Z. Z.; BROUWER, J. B.; PANG, E. C. K. Na introducion to markkers quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for croop improvement: The basic concepts. **Euphytica**, v. 142, p. 169-196, 2005.
- CORDA, A. C. I.; DEUTSCHLANDS, D. P. In: STURM J (ed). **Deutschlands Flora in Abbildungen nach der Natur mit Beschreibungen**. Sturm, Numberg, vol. 3, Abt, 12, 33-64, tab21-32, 1831.
- COSTA, V. S. O.; MICHEREFF, S. J.; MARTINS, R. B.; GAVA, C. A. T.; MIZUBUTI, E. S. G; CÂMARA, M. P. S. Species of Botryosphaeriaceae associated on mango in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**. Dordrecht, v. 127, n.4, p. 509-519, 2010.
- CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. (2ed.). Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 585 p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. (2ed.). Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 390 p.
- DAMM, U.; CANNON, P.F.; WOUDENBERG, J.H.C.; CRIUS, P.W. The *Colletotrichum acutatum* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 97-113, 2012.
- DOOD, J. C.; ESTRADA, A.; JEGER, M. Epidemiology of *C. gloesporioides* in the tropics. In: J.A. Baily S. M. J. Jeger (Eds.) *Colletotrichum. Biology pathology and control*: 308-325. Walling ford: CAB International. 1992.
- DUVAL, M. F.; BUNEL, J.; SITBON, C.; RISTERUCCI, A. M. Development of microsatellite markers for mango (*Mangifera indica* L.). **Molecular Ecology Notes** 5: p, 824–826, 2005.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genético moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos.** (3ed.). Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.

FALEIRO, F. G. Princípio científico e análises genéticas utilizando marcadores moleculares. In: FALEIRO, F. G. et al. (3ed.). **Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária.** Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 31-54, 2011.

FANG, J. G.; LIU, D. J.; MA, Z. Q. Constructing mango (*Mangifera indica L.*) genetic map using markers for double heterozygous loci. Mol. **Plant breed**, v 1, p. 313-319, 2003.

FAO. FAOSTAT. **Food and agriculture Organization United Nations**, 2018. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 18 fev. 2019.

FEHR, W. R. **Princípios de desenvolvimento de cultivares.** Teoria e Técnica. Nova York: Macmillan Publishing, v. 1, 536p, 1987.

FERREIRA, M. E.; GRATAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética.** (3ed). Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1998, 220 p.

FERREIRA, F. R.; POSSIDIO, E. L.; SOARES, N. B.; CASTRO NETO, M. T.; PINTO, A. C. Q.; DONADIOA, L. C.; FREITAS, G. B. Germoplasma de Manga no Brasil. In: **O Agronegócio manga: produção e mercado.** Vitória da Conquista: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, DFZ, 2002.

FISCHER, I. H; KIMAT, H; RESENDE, J. A. M. Doenças do maracujazeiro (*Passiflora* spp.). In: KIMAT, H; AMORIM, L; RESENDE, J. A. M, BERGAMIM FILHO; CAMARGO, L. E. A (eds). **Manual de Fitopatologia**, v 2 (4ed), São Paulo: Agronômica Ceres, p. 467 – 474, 2005.

FONSECA, N.; SCANAVACA JÚNIOR, L. **Melhoramento genético de mangueira.** In: SIMPÓSIO DE ATUALZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2008, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, v.12, p. 127-137, 2008.

FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterization os *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. **Plant Disease**, v. 82, p. 596-605, 1998.

FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P.; MARTINS, M. V. V. Status of *Lasiodiplodia theobromae* a plants pathogen in Brazil. **Essentia**, Sobral, v. 12, n. 2, p. 53-71, 2011.

FREIRE, F. C. O.; VIANA, F. M. P.; CARDOSO, J. E.; SANTOS, A. A. Novos hospedeiros do fungo *Lasiodiplodia theobromae* no Estado do Ceará. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical- Comunicado Técnico**, 2004.

GÁLAN SAÚCO, V. The mango in Latin America. **Acta Horticulturae**, v. 209, p. 123-134, 2000.

GANGA, R. T. D.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V. Parâmetros genéticos em progêneres de *Hancornia speciosa* gomes do Cerrado. **Scientia Florestalis**, v. 37, n. 85, p. 395-404, 2009.

GARCIA, A. A.; KIDO, E. A.; SOUZA, H. M. B.; PINTO, L. R.; LEITE, C. S.; SILVA da, J. A. G.; UILIAN, E. C.; FIGUEIRA, A.; SOUZA, A. P. Development of na integrated genetic map of a sugarcane (*Saccharum* spp.) comercial cross, based on a maximum-likelihood approach for estimation of linkage and linkage phases. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 112, n. 2, p. 298-314, 2005.

GHOSH, S.; MALHOTRA, P.; LALITHA, P. V.; MUKHERJEE, G.S.; CHAUHAN, V.S. Novel genetic mapping tools in plants: SNPs and LD-based approaches. **Plant Science**, v. 162, n. 3, p 329-333, 2002.

GONDRO, C.; VAN DER WERF, J. H.; HAYES, B. Genome-wide association studies and genomic prediction. Humana Press, 2013.

GRIFFITHS, A. J. F.; WESSLER, S. R.; LEWONTIN, R. C.; GELBART, W. M.; SUZUKI, D. T.; MILLER, J. H. **Introdução à Genética** (9Ed). Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ., 2008, 764p.

GUPTA, P. K.; PRASAD, M. Single nucleotide polymorphism: a new paradigma for molecular marker tecnology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants. **Current Science**, v. 80, p. 524-535, 2001.

GUPTA, P. K.; KOUR, A. Genetic parameters, character association and path analysis for fruit yield and its component characters in guava (*Psidium guajava* L.). **Eletronic Journal of Plant Breeding**, v.10, p.256–263, 2019.

HEYDE, K. D.; CAI, L.; MCKENZIE, E. H. C.; YANG, Y. L.; ZHANG, J. Z.; PRIHASTUTI, H. *Colletotrichum*: a catalogue of confusion. **Fungal Diversity**, Chiang Mai, v. 39, p. 1-17, 2009.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2019. Disponível em:<https://www.ibge.gov.br//D:/Documentos/dados_produção.pdf>. Acesso em: 28 jun. 2020.

IWATA, H.; MINAMIKAWA, M. F.; KAJIYA-KANEGAE, H.; ISHIMORI, M.; HAYASHI, T. Genomics-assisted breeding in fruit trees. **Breeding Science**, v. 66, n. 1, p. 100-115, 2016.

JOHNSON, G. I.; HOFMAN, P. J. Postharvest Technology and Quarantine Treatments. In: LITZ, R.E. The Mango: Botany, Production and Uses. (2ed). Wallingford: CAB International, p. 529-605, 2009.

KASHUSH, K; JINGGUI, F; TOMER, E; HILLEL, LAVI, U. Cultivar identification and genetic map of mango (*Mangifera indica*). **Euphytica**, v. 122, p. 129-136, 2001.

KHAN, M. A.; KORBAN, S. S. Association mapping in forest trees and fruits crops. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 11, p. 4045-4060, 2012.

KNIGHT, R. J.; CAMPBELL, R. J.; MAGUIRE, I. Important Mango Cultivars and Their Descriptors. In: LITZ, R. E. (Ed.). **The Mango: Botany, Production and Uses**. Cambridge: CABI Publishing, p. 43-66, 2009.

KUHN, D. V.; BALLY, I. S. E.; DILLON, N. L.; INNES, D.; GROH, A. M.; RAHAMAN, J.; OPHIR, R.; COHEN, Y.; SHERMAN, A. Genetic Map of Mango: A Tool for Mango Breeding. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 577, 2017.

LAL, S.; SINGH, A. K.; SINGH, S. K.; SRIVASTAU, M.; SINGH, B. P.; SHARMA, N.; SINGH, N. K. Association analysis for pomological traits in mango (*Mangifera indica* L.) by genic-ssr markers. **Trees** v. 31, n. 5, p. 1391-1409, 2017.

LI, L; MOHD, M. H; ZAKARIA, L. *Colletotrichum* species associated with mango (*Mangifera indica* L.) stem-end rot. **Journal of Plant Pathology**, v. 102, p. 505-509, 2019.

LIMA, N. B.; BATISTA, M. V. A.; MORAIS JUNIOR, M. A.; BARBOSA, M. A. G.; MICHEREFF, S. J.; HYDE, K. D.; CÂMARA, M. P. S. Five *Colletotrichum* species are responsible Brazil. **Fungal Diversity**, v. 61, p. 75-88, 2013.

LIMA, N. B.; LIMA, W. G.; TOVAR-PEDRAZA, J. M.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M. P. Comparative epidemiology of *Colletotrichum* species from mango in northeast Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 141, n. 4, p. 679-688, 2015.

LINS, S. R. de O.; ALVES, E.; OLIVEIRA, S. M. A de. Estudos da interação de Lasiodiplodia theobromae x Mangueira e Caracterização Morfológica de Isolados do Patógeno. **Acta Microscopica**, v. 19, n. 3, p. 221-231, 2010.

LIU, B. H. **Statistical Genomics: linkage mapping and QTL analysis**. Boca raton, Florida, New York: CRC Press, 611 p, 1997.

LIU, L.P.; SHU, J.; ZHANG, L.; HU, R.; CHEN, C. Q.; YANG, L. N.; LU, B. H.; LIU, Y. N.; YU, L.; WANG, X.; LI, Y.; GAO, J.; HSIANG, T. First Reprt of Post-harvest Anthracnose on Mango (*Mangifera indica*) Caused by *Colletotrichum siamense* in China. **Plant Disease**, v. 101, n. 5, p. 833-833, 2017.

LUO, C.; SHU, B.; YAO, Q.; WU, H.; XU, W.; WANG, S. Construction os a High-Density Genetic Map Based on Large-Scale Marker Development in Mango Using Specific-Locus Amplified Fragment Sequencing (SLAF-seq). **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1310, 2016.

MARGULIES, M.; EGHOLM, M.; ALTMAN, W. E.; ATTIYA, S.; BADER, J. S.; BEMBEN, L. A.; BERKA, J.; MICHAEL, S. B.; YI-JU, C.; ZHOUTAO, C.; SCOTT, B. D.; LEI, D.; JOSEPH, M. F.; XAVIER, V. G.; BRIAN, C. G.; WEN, H.; SCOTE, H.; CHUN, H. H.; GERARD, P. I., et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. **Nature**, v. 437, n. 7057, p. 376-380, 2005.

MARQUES, M. W.; LIMA, N. B.; MORAIS JUNIOR, M. A.; BARBOSA, M. A. G.; SOUZA, B. O.; MICHEREFF, S. J.; PHILLIPS, A. J. L.; CÂMARA, M. P. S. Species of Lasiodiplodia associated with mango in Brazil. **Fungal Diverit, Kunning**, v. 61, n. 1, p. 181-193, 2013 a.

MARQUES, M. W.; LIMA, N. B.; MORAIS JUNIOR, M. A.; MICHEREFF, S. J.; PHILLIPS, A. J. L.; CÂMARA, M. P. S. *Botryosphaeria, Neofusicoccum*,

Neoscytalidium and Pseudofusicoccum species associated with mango in Brazil. *Fungal Diversity*, Kunming, v. 61, n. 1, p. 195-208, 2013b.

MIQUELONI, D. P.; SIMEÃO, R. M.; DE ASSIS, G. M. Seleção genômica ampla (GWS) e Associação genômica ampla (GWAS) no melhoramento de forrageiras: abordagem conceitual, genética quantitativa e aplicações. **Enciclopédia Biosfera**, v.16, p.556-582, 2019.

MORGAN, T. H. The Application of the Conception of Pure Lines to Sex-Limited Inheritance and to Sexual Dimorphism. **American Naturalist**, v. 45, p. 65-68, 1911.

MORRIS, G. P.; RAMU, P.; DESHPANDE, S. P.; HASH, C. T.; SHAH, T.; UPADHYAYA, H. D.; RIERA-LIZARAZU, O.; BROWN, P. J.; ACHARYA, C. B.; MILCHELL, S. E.; HARRIMAN, J.; GLAUBITZ, J. C.; BUCKER, E. S.; KRESOVICH, S. Population genomic and genome-wide association studies of agroclimatic traits in sorghum. **Proceedings of the National Academy of Science**, v. 110, n. 2, p. 453-458, 2013.

MUKHERJEE, S. K.; LITZ, R. E. Introduction: botany and importance. In: LITZ, R. E. (2ed.). **Mango: botany production and uses**. Wallingford: CABI. p. 1–18, 2009.

MÜLLER, B. S. de ALMEIDA FILHO, J. E.; LIMA, B. M.; GARCIA, C. C. MISSIAGGIA, A.; AGUIAR, A. M.; TAKAHASHI, E.; KIRST, M.; GEZAN, S. A.; SILVA-JUNIOR, O. B.; NEVES, L. G.; GRATTAPAGLIA, D. Independent and Joint-GWAS for growth traits in Eucalyptus by assembling genome-wide data for 3373 individuals across four breeding populations. **New Phytologist**, v. 221, n. 2, p. 818-833, 2019.

MUÑOZ-AMATRIAN, M.; MIREBRAHIM, H.; XU, P.; WANAMAKER, S.I.; LUO, M.; ALHAKAMI, H.; ALPERT, M.; ATOKPLE, I.; BATIENO, B.J.; BOUKAR, O.; BOZDAG, S.; CISSE, N.; DRABO, I.; EHLERS, J.D.; FARMER, A.; FATOKUN, C.; GU, Y.Q.; GUO, Y-N.; HUYNH, B-L.; JACKSON, S.A.; KUSI, F.; LAWLEY, C.T.; LUCAS, M.R.; MA, Y.; TIMKO, M.P.; WU, J.; YOU, F.; BARKLEY, N.A.; ROBERTS, P.A.; LONARD, S.; CLOSE, T.J. Genome resources for climate-resilient cowpea, an essential crop for food security. **The Plant Journal**, v. 89, n. 5, p. 1042-1054, 2017.

O'CONNEL, R.J.; THON, M.R.; HACQUARD, S.; AMYOTET, S.G.; KLEEMANN, L.; TORRES, M.F.; DAMM, U.; BUIATE, E.A.; EPSTEIN, L.; AKLAN, N.; ALTMULLER, J.; ALVARADO-BALDERRAMA, L.; BAUSER, C.A.; BECKER, C.; BIRREN, B.W.; CHEN, Z.; CHOI, J.; CROUCH, J.A.; DUVICK,, J.P.; FARMAN, M.A.; GAN, P.; HEIMAN, D.; HENRISSAT, B.; HOWARD, R.J.; KKABBAGE, M.; KOCH, C.; KRACHER, B.; KUBO, Y.; LAW, A.D.; LEBRUN, M.H.; LEE, Y.H.; MOORE, N.; NEUMANN, U.; NORDSTROM, K.; PANACCIONE, D.G.; PANTRUGA, R.; PLACE, M.; PROCTOR, R.H.; PRUSKY, D.; RECH, G.; REINHARDT, R.; ROLLINS, J.A.; ROUNSLEY, S.; SCHARDL, C.L; SCHWARTZ, D.C.; SHENOY, N.; SHIRASU, K.; SIKHAKOLLI, U.R.; STUBER, K.; SUKNO, S.A.; SWEIGARD, J.A.; TAKANO, Y.; TAKAHARA, H.; TRAIL, F.; H.; VAN DER DOES, C.; VOOLL, L.M.; WILL, I.; YOUNG, S.; ZENG, Q.; ZHANG, J.; ZHOU, S.; DICKMAN, M.B.; SCHULZE-LEFERT, P.; VER LOREN VANN TEMAAT, E.; MA, L.J.; VAILLANCOURT, L.J. Lifestyle transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi deciphered by genome and transcriptome analyses. **Nature Genetics**, v. 44, p. 1060-1065, 2012.

O'CONNOR, K.; HAYES, B.; HARDNER, C.; NOCK, C.; BATEN, A.; ALAM, M.; HENRY, R.; TOPP, B. Genome-wide association studies for yield component traits in a macadamia breeding population. **BMC genomics**, v. 21, v. 1, p. 1-12, 2020.

OLIVEIRA, V. R. de; RESENDE, M. D. V.; NASCIMENTO, C. E. de S.; DRUMOND, M. A.; SANTOS, C. A. F. Variabilidade genética de procedências e progêneres de umbuzeiro via metodologia de modelos lineares mistos (REML/BLUP). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 1, p. 53-56, 2004.

PALMIERE, F. G. **Análise da produção de manga no Brasil e exterior, e perspectivas de mercado.** Trabalho apresentado na 27^a Feira Nacional da Agricultura Irrigada (FENAGRI), Juazeiro-BA, 2018.

PARDO-DE LA HOZ, C. J.; CALDERON, C.; RINCON, A. M.; CÁRDENAS, M.; DANIESA, G.; LÓPEZ-KLEINEB, L.; RESTREPOA, S.; JIMÉNEZ, P. Spécies from the *Colletotrichum acatum*, *Colletotrichum boninense* and *Colletotrichum gloesporioides* species complexes associated with tree tomato and mango crops in Colombia. **Plant Pathology**, v. 65, p. 227-237, 2016.

PARIKH, L.; MMBAGA, M. T; KODATI, S.; BLAIR, M.; HUI, D.; MERU, G. Broad-sense heritability and genetic gain for powdery mildew resistance in multiple pseudo-F₂ populations of flowering dogwoods (*Cornus florida* L.). **Scienctia Horticultura**, v. 213, p. 216-221, 2016.

PAVLIC, D.; SLIPPERS, B.; COUTINHO, T. A.; GRYZEENHOUT, H.; WINGFIELD, M. J. *Lasiodiplodia gonubiensis* sp. nov. a new Botryosphaeria anamorph from native *Syzygium cordatum* in South Africa. **Studies in Mycology**, v. 50, p 313-322, 2004.

PERFECT, S. E.; HUGHES, H. B.; O'CONNELL, R. J.; GREEN, J. R. *Colletotrichum*: a model genus for studies on pathology and fungal-plant interactions. **Fungal Genetics and Pathology**, v. 27, p. 186-198, 1999.

PHILLIPS, A. J. L.; ALVES, A.; PENNYCOOK, S. R.; JOHNSTON, P. R.; RAMALEY, A.; AKULOV, A.; CROUS, P. W. Resolving the phylogenetic and taxonomic status of dark-spored teleomorph genera in the Botryosphaeriaceae. **Persoonia**, v. 21, p. 29-55, 2008.

PINHEIRO, T. M.; ARAÚJO, L. G.; SILVA-LOBO, V. L.; PRABHU, A. S.; FILIP, M. C. Tagging microsatellite marker to a blast resistance gene in the irrigated rice cultivar cica-8. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 12, 164-170, 2012.

PINTO, A. C. Q. Melhoramento genético da manga (*Mangifera Indica* L.) no Brasil. In: ROZANE, D. E; DAREZZO, R.J; AGUIAR, R.L; AGUILERA, G. H. A; ZAMBOLIM, L. **Manga: produção integrada, industrialização e comercialização**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p. 17-78, 2004.

PINTO, A. C. Q.; LIMA NETO, F. P.; GUIMARÃES, T. G. Estratégias do melhoramento genético da mangueira visando atender a dinâmica de mercado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, Volume Especial, p. 64-72, 2011.

PINTO, A. C; COSTA, J. G; SANTOS, C. A. F. Principais Variedades. In: GENÚ, P. J. C.; PINTO, A. C. Q. **A cultura da mangueira**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas. 2002. 454 p.

PINTO, A. C. de Q.; FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. D de.; CORDEIRO, M. C. R.; ANJOS, J. R. N.; JUNQUEIRA, N. T. V.; RAMOS, V. H. V.; BRAGA, M. F.; ROSSETTO, C. J.; SOUZA, V. A. B de; COSTA, J. G. da; JÚNIOR, L. M.; DIAS, J. N.

Melhoramento Genético da mangueira em ambiente tropical por meio de hibridação intervarietal e com auxílio de marcadores moleculares. In: Resultados de pesquisa para o cerrado 2004-2005. Embrapa Cerrados, Planaltina-DF, p. 27-33, 2007.

PLOETZ, R.C. Anthracnose of mango: Management of the most importante pre-and post-harvest disease. Relatório: University of Florida, TREC-Homestead. Departamento of Plant Pathology, p. 1-11, 2010.

PUNITHALINGAM, E. Botryodiplodia theobromae. CMI descriptions of pathogenic fungi and bactéria, Kew, Surrey, England. Commonweath. **Mycological Intitute**, v. 519, p. 1-3, 1976.

QUERO, G.; GUTIÉRREZ, L.; MONTEVERDE, E.; BLANCO, P.; PEREZ DE VIDA, F.; ROSAS, J.; FERNÁNDEZ, S.; GARAYCOCCHEA, S.; McCOUCH, S.; BERBERIAN, N.; SIMONDI, S.; BONNECARRÈRE, V. Genome-wide association study using historical breeding populations discovers genomic regions involved in high-quality rice. **The plant genome**, v. 11, n. 3, p. 1-12, 2018.

RAFALSK, A. Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. **Current Opnions in Plant Biology**, v. 5, p. 94-100, 2002.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos. **Genética na agropecuária.** (ed). Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2008, 464 p.

REETZ, E. R; KIST, B. B; SANTOS, C. E. CARVALHO, C; DRUM, M. **Anuário brasileiro de fruticultura.** Santa Cruz do Sul: Gazeta, v. 137, 104, 2015.

RESENDE, M. D. V de. **SELEGEN-REML/BLUP: sistema estatístico e seleção genética computadorizada via modelos lineares mistos.** Colombo: Embrapa Florestas, 2007, 359 p.

RESENDE, M. D. V.; DIAS, L. A. S. Aplicação da metodologia de modelos mistos (REML/BLUP) na estimativa de parâmetros genéticos e predição de valores genéticos aditivos e genotípicos em espécies frutíferas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Brasília. v. 1, n. 11, p. 44-52, 2000.

RESENDE, M. F. R. et al. Seleção genômica amola. **Genômica Aplicada.** Editora ufv, p. 375-424, 2013.

- RIBEIRO, I. J. A. Doenças da mangueira (*Mangifera indica* L.). In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A (Ed). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**, (4Ed). São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, p. 457-465, 2005.
- RIVERA-VARGAS, L. I.; LUGO-NOEL, Y.; MCGOVERN, R. J.; SEIJO, T.; DAVIS, M. J. Occurrence and distribution os *Colletotrichum* spp. On mango (*Mangifera indica* L.) in Puerto Rico and Florida, USA. **Plant Pathology Journal**, Faisalabad, v. 5, n. 2, p. 191-198, 2006.
- ROCHA, M. M. Estimativas de parâmetros genéticos em genótipos de feijão-caupi de tegumento branco. **Revista Científica Rural**, v. 8, p.135-141, 2003.
- SANTOS FILHO, H. P.; MATOS, A. P. Doenças da mangueira. In: Freire, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P (Eds). **Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial**. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, p. 435-991, 2003.
- SANTOS, C. A. F.; NETO, F. P. L. Outcrossing rate between ‘Haden’ and ‘Tommy Atkins’ mangoes using microsatélite and AFLP markers. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília-DF, v. 46, n. 8, p. 899-904, 2011.
- SANTOS-SEREJO, J. A. Classificação e descrição botânica. In: PEREIRA, M. E. C. et al. **Manga: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 15-17. (Coleção 500 perguntas, 500 respostas), 2005.
- SCHNELL. R.; BROWN, J. S.; OLANO, C.; MEEROW, A.; CAMPBELL, R.; KUHUN, D. Mango genetic diversity analisys and pedigree inferences for Florida cultivars using microsatellirte markers. **Horticultural Science**, v. 41, n. 4, p. 993-993, 2006.
- SCHUSTER, I.; CRUZ, C.D. **Estatística genômica aplicada a populações derivadas de cruzamentos controlados**. (ed.). Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004, 568 p.
- SHERMAN, A.: RUBISTEIN, H.; ESHED, R.; BENITA, M.; ISH-SHAIOL, M.; SHARABI-SCHWAGER, M.; ROZEN, A.; SAADA, D.; COHEN, Y & OPHIR, R. Mango (*Mangifera indica* L.) germplasm diversity based om single nucleotide polymorphisms derived from the transcriptome. **BMC Plant Biology**, v. 15, n. 1, p.277, 2015.

SEMAGN, K.; BJORNSTAD, A.; NDJIONDJOP, M. N. Principles, requirements and prospects of genetic mapping in plants. **African Journal of Biotechnology**, v. 25, p. 2569-2587, 2006.

SHARMA, G.; KUMAR, N.; WEIR, B. S.; HYDE, K. D.; SHENOY, B. D. The ApMat marker can resolve *Colletotrichum* species: a case study with *Mangifera indica*. **Fungal Diversity**, v. 61, p. 117-138, 2013.

SILVA, C. R. R.; FONSECA, E. B. A.; MOREIRA, M. A. **A cultura da mangueira**. Lavras: UFLA, p.116, 2002.

SLIPPERS, B; WINGFIELD, M. Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. **Fungal Biology Reviews**, v. 21, p. 90-106, 2007.

SOUZA, A. **Caracterização molecular e patogênica de isolados de Colletotrichum spp. Associados a sintomas de antracnose em mangueiras**. 91 f. Dissertação (mestrado em Ciências Agrárias e Veterinárias) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011.

SOUZA, A.; CARBONI, R. C. D.; WICKERT, E.; LEMOS, E. M.; GOES, A. Lack of host specificity of *Colletotrichum* spp. Isolates associated with anthracnose symptoms on mango in Brazil. **Plant Pathology**, v. 62, p. 1038-1047, 2013.

SOUZA, A. G.; RESENDE, L. V.; LIMA, I. P.; SANTOS, R. M dos; CHALFUN, N. N. Variabilidade genética de acessos de araçazeiro e goiabeira suscetíveis e resistentes a *Meloidogyne enterolobii*. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v.44, n.5, p.822-829, 2014.

TAVARES, S. C. C. H. Epidemiologia e manejo integrado de *Botryodiplodia theobromae* - situação atual no Brasil e no mundo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 3, p. 46-52, 2002.

TAVARES, S. C. C. H. **Principais doenças da mangueira e alternativas de controle**. Distrito Federal; Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semiárido/EMBRAPA, 1995. (Informações técnicas sobre a cultura da manga no Semiárido brasileiro).

TAVARES, S. C. C. H.; MENEZES, M.; CHOUDHURY, M. Infecção da mangueira por *Btryodiplodia theobromae* Lat. na região semiárida de Pernambuco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 13, n. 1, p. 163-166, 1991.

- TEIXEIRA, F. F.; COSTA, F. M.; SÁBATO, E. O.; LEITE, C. E. P.; MEIRELLES, W. F.; GUIMARÃES, C. T.; BELICUAS, S. N. J. Pré-melhoramento de milho quanto a resistência a enfezamentos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, p. 51-58, 2013.
- TERAO, D.; BATISTA, D. C.; RIBEIRO, I. J. A. Doenças da mangueira (*Mangifera indica* L.). In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (5Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, p. 224-533, 2016.
- TOVAR-PEDRAZA, J. M.; MORA-AGUILERA, J.A.; NAVA-DIAZ, C.; LIMA, N. B.; MICHEREFF, S. J.; SANDOVAL-ISLAS, J. S.; CÂMARA, M. P. S.; TÉLIZ-ORTIZ, D.; LEYYA-MIR, S. G. Distribution and Pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with mango anthracnose in México. **Plant Disease**, v. 104, n. 1, p. 137-146, 2019.
- TURCHETTO-ZOLET, A. C.; TURCHETTO, C.; ZANELLA, C. M.; PASSAIA, G. **Marcadores Moleculares na Era Genômica**: Metodologias e Aplicações. Editora SBG Sociedade Brasileira de Genética. Ribeirão Preto, SP, v. 181, 2017, 94 p.
- VALOUEV, A.; JOHONSON, D. S.; SUNDQUIST, A.; MEDINA, C.; ANTON, E.; BATZOGLOU, S.; SIDOW, A. Genome-wide analysis of transcription factor binding sites based on ChIP-Seq data. **Nature methods**, v. 5, n. 9, p. 829-834, 2008.
- VENCOVSKY, R. Genética quantitativa. In: KERR, W. E. **Melhoramento genético**. São Paulo: Melhoramentos, p. 17-37, 1969.
- VIEIRA, W. A. S; MICHEREFF, S. J; de MORAIS, J. R; HEYDE, K. D; CÂMARA, M. P. S. Endophytic species of *Colletotrichum* associated with mango in northeast Brasil. **Fungal Diversity**, Kuning, v. 67, n. 1, p. 181-202, 2014.
- VOSS-FELS, K.; SNOWDON, R. J. Understanding and utilizing crop genome diversity via high-resolution genotyping. **Plant Biotechnology Journal**, v.14, p.1086-1094, 2016.
- WANG, P; LUO, Y; HUANG, J; GAO, S; ZHU, G; DANG, Z; GAI, J; YANG, M; ZHU, M; ZHANG, H. The genome evolution and domestication of tropical fruit mango. **Genome Biology**. v. 21, 60p, 2020.

- WEIR, B. S.; JOHNSTON, P.R.; DAMM, U. The *Colletotrichum gloesporioides* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, n. 1, p. 115-180, 2012.
- WU, R.; MA, C.; CASELLA, G. **Statistical genetics of quantitative traits: linkage, maps and QTL**. New York. Springer, 2007, 365p
- XIAO, Y.; LIU, H.; WU, L.; WARBURTON, M.; YAN, J. Genome-wide association studies in mize: praise and stargaze. **Molecular plant**, v. 10, n. 3, p. 359-374, 2017.
- YU, J.; PRESSOIR, G.; BRIGGS, W. H.; VROH, I.; YAMASAKI, M.; DOEBLEY, J. F.; McMULLEN, M. D.; GAUT, B. S.; NIELSEN, D. M.; HOLLAND, J. B.; KRESOVICH, S.; BUCKLER, E. S. A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. **Nature Genetics**, v. 38, n. 2, p. 1-7, 2006.
- ZHANG, J.; SONG, Q.; CREGAN, P. B.; NELSON, R. L.; WANG, X.; WU, J.; JIANG, G. L. Genome-wide association study for flowering time, maturity dates and plant height in early maturing soybean (*Glycine max*) germplasm. **BMC genomics**, v. 16, n. 1, p. 1-11, 2015.
- ZHANG, Z.; SHANG, H.; SHI, YUZHEN.; HUANG, T.; LI, J.; GE, Q.; GONG, J.; LIU, A.; CHEN, T.; WANG, D.; WANG, Y.; PALANGA, K.K.; MUHAMMAD, J.; LI, W.; LU, Q.; DENG, X.; TAN, Y.; SONG, W.; CAI, J.; LI, P.; RASHID, H.; GONG, W.; YUAN, Y. Construction of a high-density genetic map by specific locus amplified fragment sequencing (SLAF-seq) and its application to Quantitative Trait Loci (QTL) analysis for boll weight in upland cotton (*Gossypium hirsutum*). **BMC Plant Biology**, v. 16, n. 79 p.1-18, 2016.
- ZHOU, S.; STANOSZ, G.R. Relationships among Botryosphaeria species and associated anamorphic fungi inferred from the analyses of ITS and S. 8 S rDNA – sequences. **Mycologia**, v. 93, p. 516-527, 2001.

**CAPÍTULO I - SELEÇÃO DE PROGÊNIES E HERANÇA DA RESISTÊNCIA A
Colletotrichum siamense EM CRUZAMENTOS DE *Mangifera indica***

Seleção de progêneres e herança da resistência a *Colletotrichum siamense* em cruzamentos de *Mangifera indica*

Resumo

A antracnose é a principal doença da mangueira no mundo, afetando flores, ramos, folhas e frutos no campo e em pós-colheita. O presente estudo teve como objetivo compreender a herança da resistência à antracnose causada por *Colletotrichum siamense* nas progêneres ‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’ (cruzamento 1) e ‘Keitt’ × ‘Tommy Atkins’ (cruzamento 2) para apoiar a seleção de progêneres de mangueira resistentes. A inoculação artificial do patógeno foi realizada em plantas de 15 anos, pulverizando uma suspensão de conídios (10^6 conídios / mL) nos ramos e dossel de folhas jovens, seguida de cobertura de câmara úmida por 48 horas. As plantas foram consideradas resistentes quando a ausência de sintomas foi > 90% nas três diferentes avaliações. As estimativas dos parâmetros genéticos foram obtidas pelos testes REML/BLUP e qui-quadrado e pelo método de Burton (MB). ‘Keitt’ e ‘Haden’ mostraram resistência, enquanto ‘Tommy Atkins’ foi moderadamente suscetível. Em ambos cruzamentos, a resistência à antracnose apresentou segregação epistática de 15:1 conferida por alelos recessivos, com herdabilidade de 90% para ambos cruzamentos, de acordo com o MB. A herdabilidade pelo REML/BLUP no sentido amplo foi alta, correspondendo a 88% e 78% para os cruzamentos 1 e 2, respectivamente, indicando também herança simples para resistência à antracnose. O ganho genético médio das progêneres selecionadas foi de 23,3%, sendo que duas delas apresentaram resistência à antracnose próxima a 100%. Os resultados indicam alta herdabilidade e herança simples para resistência à antracnose em mangueira, possibilitando a obtenção de progêneres resistentes na primeira geração, do cruzamento de ao menos um genótipo resistente, seguido de clonagem simples para manutenção da planta resistente.

Palavras-chave: Mangueira, herdabilidade, melhoramento genético, REML/BLUP

Abstract

Anthracnose is the main mango disease worldwide, affecting flowers, branches, leaves, and fruits in the field and post-harvest. The present study aimed to understand the inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum siamense* in the progenies 'Haden' × 'Tommy Atkins' (cross1) and 'Keitt' × 'Tommy Atkins' (cross2) to support the selection of resistant progenies. Artificial pathogen inoculation was performed on 15-year-old plants by manually spraying a 10^6 conidia/mL suspension on young branches and leaves, followed by covering with a humidity chamber for 48 hours. The plants were considered resistant when the absence of symptoms was >90% over three different evaluations. Estimates of genetic parameters were obtained by the REML/BLUP and chi-square tests and by the Burton method (BM). 'Keitt' and 'Haden' were resistant to the fungus, while 'Tommy Atkins' was moderately susceptible. In both crosses, anthracnose resistance showed a 15:1 epistatic segregation conferred by recessive alleles, with 90% heritability for both crosses, according to the BM. The REML/BLUP broad-sense heritability was high, corresponding to 88% and 78% for cross1 and cross2, respectively, also indicating simple inheritance for anthracnose resistance. The average genetic gain of the selected progenies was 23.3%, and two of them showed resistance to anthracnose close to 100%. Our results indicate high heritability and simple inheritance for anthracnose resistance in mango, making it possible to obtain resistant progenies in the first generation after a crossing with at least one resistant genotype followed by simple cloning to maintain the resistant plant.

Key words: Mango, *Colletotrichum siamense*, heritability, genetic improvement, REML/BLUP

INTRODUÇÃO

A mangueira (*Mangifera indica* L.), originada da Índia, é cultivada na maioria dos países tropicais e subtropicais, bem como em áreas de clima marginal no mundo (OGATA et al., 2016). A Índia é o maior produtor mundial de manga, com cerca de 19,5 milhões de toneladas, enquanto o Brasil ocupa a sétima posição, com mais de 1,5 milhões toneladas (GALÁN SAÚCO, 2017). O Vale do Rio São Francisco, localizado nos estados da Bahia e Pernambuco, é a maior região produtora de manga do Brasil, respondendo por quase 100% das exportações nacionais (CARVALHO et al., 2019). Os frutos da manga têm uma aparência visual atraente (WANG et al., 2020) e a popularidade da manga está crescendo devido ao seu alto valor nutracêutico e farmacêutico, incluindo o polifenol mangiferina, seu composto mais abundante e bioativo (MASIBO e HE, 2009).

A antracnose é considerada mundialmente como a principal doença da mangueira, afetando flores, ramos, folhas e frutos no campo e na pós-colheita (BALLY e DILLON, 2018). No nordeste do Brasil, o fungo *Colletotrichum siamense* (= *C. dianesei*) é a espécie

mais frequentemente associada com danos na mangueira, embora outras espécies de *Colletotrichum* infectem, em menor extensão, a cultura (LIMA et al., 2013). Os danos causados pela antracnose incluem manchas arredondadas ou irregulares em ambos os lados da lâmina foliar, que a deformam e dão o aspecto de queimaduras nas folhas jovens, enquanto manchas necróticas ocorrem em brotos e inflorescências, causando desfolhas, queima de flores e frutos juvenis (TERAO et al., 2016). Frutos em desenvolvimento podem ser infectados e permanecerem quiescentes até o desenvolvendo de sintomas na pós-colheita, afetando a comercialização dos frutos (TERAO et al., 2016). Antracnose causa 2% a 60% das perdas totais na produção de manga em diferentes países (LIMA et al., 2013; TUCHO; LEMESSA; BERECHA. 2014).

Medidas de controle da antracnose incluem aplicações preventivas de fungicidas em pré e pós-colheita (BALLY e DILLON, 2018), que nem sempre garantem sucesso devido ao complexo manejo da doença e aos diversos aspectos epidemiológicos envolvidos (ARAUZ, 2000), bem como às restrições quanto à segurança alimentar. O controle genético pode reduzir significativamente os custos atuais de produção com insumos e melhorar a qualidade pós-colheita e a vida útil das frutas, tornando o uso de cultivares geneticamente resistentes uma prática mais econômica e sustentável (GUPTA; SINGH; SINGH, 2015).

Estimativas de parâmetros genéticos são importantes para desenvolver genótipos resistentes a estresses bióticos e abióticos, e esses estudos com mangueira são geralmente escassos devido à longa fase juvenil da planta, alta heterozigosidade, poliembrionia, incompatibilidade de cultivares e pequenos tamanhos populacionais (BALLY e DILLON, 2018). Estimativas de parâmetros genéticos em doenças fúngicas da mangueira são restritas a *Ceratocystis fimbriata* (ARRIEL et al., 2016), *Lasiodiplodia theobromae* e *Neofusicoccum parvum* (COELHO; SANTOS; BATISTA, 2018). Estudos sobre a herança da antracnose, causada por diferentes espécies foram conduzidas por Suwor et al. (2017) com *Capsicum*, por Nataraj, Maranna e Kumawat (2020) em *Glycine max* e por Erpelding (2007) com *Sorghum*.

O presente estudo teve como objetivo investigar a herança da resistência à antracnose causada por *C. siamense* em progêneres resultantes dos cruzamentos entre ‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’ e ‘Keitt’ × ‘Tommy Atkins’ para apoiar o desenvolvimento de cultivares de mangueira resistentes ao patógeno.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Plantas das cultivares de manga 'Haden' (n=19), 'Keitt' (n=33) e 'Tommy Atkins' (n=14) e progêneres de 'Haden' × 'Tommy Atkins' (n=82) e cruzamentos de 'Keitt' × 'Tommy Atkins' (n= 57) foram avaliadas quanto a resistência a antracnose. As progêneres enxertadas no porta-enxerto 'Espada' foram transplantadas para campo em 2002, sem delineamento experimental, na Estação Experimental da Embrapa Semiárido, localizada no distrito de Mandacaru, município de Juazeiro, Estado da Bahia, Brasil. Plantas pseudo- F_2 , conforme descrito por Coelho et al. (2018), foram avaliadas aos 15 anos de idade.

Progêneres de polinização aberta foram obtidas através da identificação de plantas isoladas 'Haden' e 'Keitt' cercadas por milhares de plantas 'Tommy Atkins' em um pomar comercial em Petrolina, Estado de Pernambuco, Brasil. Plantas off-type e autofecundadas foram identificadas por marcadores de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) e eliminadas, de forma que apenas híbridos verdadeiros fossem analisados. Essas populações pertencem a um programa contínuo de melhoramento genético de mangueira da Embrapa Semiárido.

Produção do inóculo

O isolado de *C. siamense*, obtido originalmente do laboratório de Micologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) (LIMA et al., 2013) foi utilizado no estudo. O patógeno foi cultivado por dez dias em placa de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) para crescimento durante dez dias em câmara Biochemical Oxigen Demand (BOD) a 27°C. Após o crescimento do patógeno, um disco contendo meio BDA e estruturas do fungo foi transferido para Erlenmeyers contendo meio líquido batata-dextrose e assentado em mesa agitadora orbital, a uma velocidade de 100 rpm, durante cinco dias para crescimento e desenvolvimento de conídios do fungo. O meio líquido batata-dextrose com estruturas do patógeno foi filtrado com auxílio de gaze. Os conídios foram contados em câmara de Neubauer e a suspensão ajustada para a concentração de 10^6 conídios/mL.

Avaliação para resistência a antracnose

O método de inoculação adotado foi de pulverizar a suspensão do inóculo em ramos contendo folhas novas sem provocar ferimentos (DHINGRA e SINCLAIR, 1995). Para

tanto, foi utilizado um pulverizador manual e aplicado à suspensão de 10^6 conídios/mL sobre o conjunto de ramo e folhas novas.

Cada ramo inoculado e suas folhas foram protegidos com uma câmara úmida construída com saco plástico umedecido com água destilada esterilizada, para manter a umidade necessária para infecção do patógeno, seguido de cobertura com saco de papel branco para evitar a queima do material vegetal. Quarenta e oito horas após a inoculação, a câmara úmida foi removida e a severidade da antracnose foi quantificada após cinco dias da inoculação. Esse procedimento foi repetido três vezes nas mesmas progênies de ‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’ e ‘Keitt × Tommy Atkins’ e, também nos três pais.

O método de avaliação da resistência nos genitores e progênies foi uma adaptação da percentagem de infecção descrita por Coelho et al. (2018): Resistência a Antracnose em Campo (RAC) = (número de ramos e folhas sem sintomas/ número total de ramos e folhas avaliados) * 100. Plantas com média superior a 90%, em três períodos distintos, foram consideradas resistentes a *C. siamense*, conforme adotado por Coelho et al. (2018), para *L. theobromae* e *N. parvum* em mangueira.

Análises estatísticas

O teste de Dunnet ($p \leq 0,05$) foi usado para classificar os pais quanto à resistência à doença usando o software Genes (CRUZ, 2016). O teste de Tukey ($p \leq 0,05$) foi utilizado para classificar as progênies resistentes selecionados pelo BLUP-individual (CRUZ, 2016). As estimativas dos componentes de variância e dos parâmetros genéticos foram obtidas pelo método dos modelos mistos através do procedimento REML (Método da máxima verossimilhança restrita) / BLUP (Método da melhor predição linear não-viesada) usando o software Selegen-REML/BLUP (RESENDE, 2010). O ajuste REML/BLUP foi baseado no modelo misto:

$$y = Xr + Zg + Wp + e$$

em que y é o vetor de dados, r é o vetor dos efeitos de repetição (fixos) somados à média geral, g é o vetor de efeitos genotípicos individuais (aleatórios), p é o vetor dos efeitos de parcelas (aleatórios), e é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

A herdabilidade no sentido amplo também foi estimada, adotando a fórmula de Burton (1951):

$$h_a^2 = \delta_{F2}^2 - ((\delta_{P1}^2 + \delta_{P2}^2)/2) / \delta_{F2}^2 \text{ em que,}$$

(δ_{F2}^2) = variância da F_2 ;

$$(\delta_{P1}^2) = \text{variância do P}_1;$$

$$(\delta_{P2}^2) = \text{variância do P}_2.$$

O ganho genético (GG) obtido pela seleção das 10 plantas mais resistentes foi estimado como $GG = [h^2 * (\text{média das plantas selecionadas} - \text{média da população geral})] * 100$ (Resende, 2010). Os valores genotípicos foram estimados levando-se em consideração as informações sobre indivíduos e famílias.

Os ajustes para as frequências observadas e esperadas para as hipóteses das proporções mendelianas nas duas populações, foram realizadas por meio do teste de qui-quadrado (χ^2) a 5% de probabilidade em planilha e Excel.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Protocolo de inoculação e análise de segregação

O procedimento de inoculação do fungo *C. siamense* foi eficaz no desenvolvimento de sintomas, com o aparecimento de manchas necróticas nas folhas e/ou de crestamento e morte de ponteiros (“dieback”) em casos mais severos (Figura 1), exigindo poda e queima dos ramos inoculados para evitar a propagação da doença.

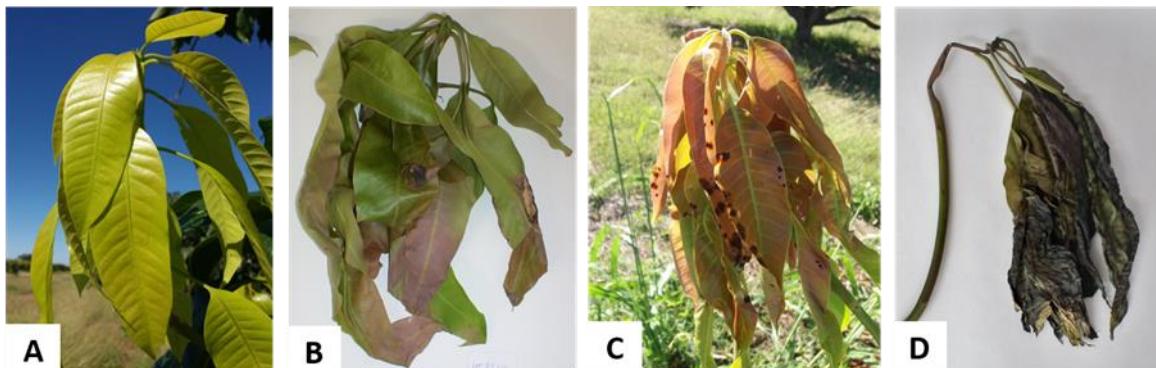


Figura 1. Ausência de sintomas de antracnose na cultivar ‘Keitt’ (A), presença de manchas necróticas na progênie HT42 ‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’ (B) e na cultivar ‘Tommy Atkins’ (C), e sintomas de necrose foliar e morte na progênie HT79 ‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’ (D).

Estudos que avaliaram a resistência da antracnose em mangueira utilizaram como indicativo sintomas em frutos na pós-colheita (BALLY e DILLON, 2018; ONYEANI, 2017). No entanto, semelhante aos estudos de Vitale et al. (2020) e Gupta et al. (2015), devido à praticidade desse tipo de avaliação, a resistência em folhas da mangueira foi escolhida para este estudo, uma vez que folhas doentes asseguram a natureza cíclica da

antracnose e são os principais reservatórios de inóculos para contaminação de flores e frutos (DEMBELE et al., 2019), influenciando o curso da epidemia desde a fase vegetativa. A estratégia utilizada de inoculação artificial, com menor dependência de características climáticas e ambientais, facilitou a avaliação da doença, evitando infecções cruzadas de outras espécies de *Colletotrichum* que ocorrem em condições naturais (LIMA et al., 2013). Vale ressaltar que estudos sobre o controle genético para antracnose em espécies frutíferas são raros ou inexistentes, sendo, portanto, um estudo pioneiro em mangueira.

Os cultivares ‘Keitt’ e ‘Haden’ apresentaram um percentual médio de ausência de sintomas de 88,6% e 87,2%, respectivamente, enquanto o cultivar ‘Tommy Atkins’ apresentou uma porcentagem média de 55% de ausência de sintomas, possibilitando diferenciar os genitores utilizados nos cruzamentos (Figura 2).

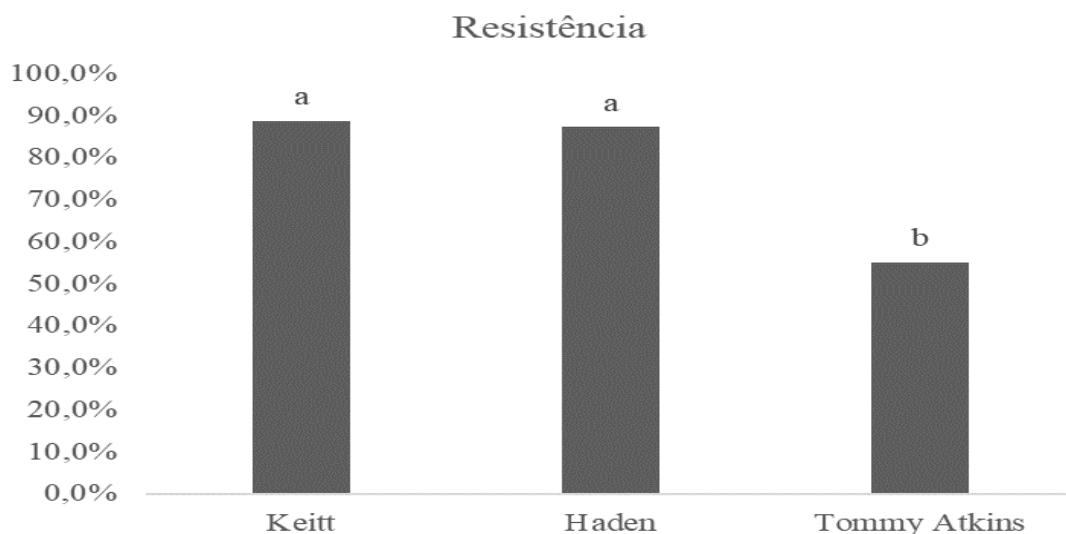


Figura 2. Média (%) de três avaliações para ausência de sintomas foliares causada por *Colletotrichum siamense* nas cultivares de manga ‘Keitt’, ‘Haden’ e ‘Tommy Atkins’. Cultivares seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Dunnet a 5% de probabilidade.

A cultivar ‘Keitt’ tem sido considerada como resistente à antracnose causada por *C. gloeosporioides*, de acordo com (GONG et al., 2013) e (BHAGWAT et al., 2015), corroborando com o resultado do presente estudo. Os teores elevados de fenilalanina amonialiase, peroxidase e polifenol oxidase, bem como ligninas e peróxido de hidrogênio foram apontados como compostos importantes para a resistência na ‘Keitt’, quando comparado aos baixos níveis na ‘Zill’, considerada suscetível (GONG et al., 2013). Em outro estudo, onde ‘Keitt’ foi considerada resistente, compostos constitutivos com

propriedade antifúngica (5-n-heptadecenilresorcinol e 5-n-pentadecilresorcinol) foram presentes em níveis superiores em relação às demais variedades suscetíveis (HASSAN et al., 2007). Diferente desses resultados, Vitale et al. (2020) reportaram ‘Keitt’ como suscetível a antracnose causada por *C. asianum*. A existência da espécie *C. asianum* em pomares de mangueira no nordeste do Brasil (LIMA et al., 2013) pode causar danos a ‘Keitt’ caso a dispersão dessa espécie aumente, visto que as folhas são as mais suscetíveis.

Adikshita e Sharma (2018) relatam ‘Tommy Atkins’ como suscetível a *C. gloeosporioides* em condições naturais no Himachal Pradesh, Índia, corroborando com as estimativas do presente estudo, enquanto, Vitale et al. (2020) reportaram ‘Haden’ como moderadamente tolerante a *C. asianum* sob condições de campo em Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Quanto aos cruzamentos foram observados 75 e 55 progênies suscetíveis, ou seja, com percentual de ausência de sintomas <90% para as populações ‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’ e ‘Keitt’ × ‘Tommy Atkins’, respectivamente. Sete plantas foram consideradas resistentes na população de ‘Haden’ x ‘Tommy Atkins’, enquanto duas plantas na população ‘Keitt’ × ‘Tommy Atkins’ (Tabela 1). As proporções de 75:7 e 55:2 indicam segregação epistática de 15:1 em ambas as populações, com resistência conferida por alelos recessivos (Tabela 1). Esses indivíduos identificados como resistentes podem ser avaliados agronomicamente para outras características ou explorados como possíveis pais em cruzamentos futuros, possibilitando o aumento de alelos favoráveis.

Tabela 1. Teste de qui-quadrado (χ^2) para segregação 3:1, 9:7, 13:3 e 15:1 para suscetibilidade e resistência a *Colletotrichum siamense*, em dois cruzamentos de mangueira.

Cruzamentos	Plantas inoculadas	Plantas suscetíveis	Plantas resistentes	χ^2			
				3:1	9:7	13:3	15:1
‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’	82	75	7	11,85**	41,32**	5,98**	0,62 ^{ns}
‘Keitt’ × ‘Tommy Atkins’	57	55	2	16,43**	40,85**	10,81**	1,97 ^{ns}

^{ns} não significativo, ** significativo a 1% de probabilidade pelo teste do qui-quadrado.

Não existem relatos do controle genético para resistência a antracnose em mangueira, bem como em outras frutíferas. No entanto, existem relatos em outras espécies agrícolas. Suwor et al. (2017), ao avaliarem a herança da resistência à antracnose em populações de pimenta, concluíram que a resistência é monogênica, controlada por alelos recessivos.

Nos resultados encontrados no presente estudo o caráter é controlado por genes recessivos de efeito epistático para as duas populações. Resultados similares ao presente estudo foram relatados por Beshir et al. (2016), que ao estudarem a resistência a antracnose em sorgo causada pelo fungo *C. sublineola* identificaram que a ação gênica tem efeitos de dominância e epistasia.

Bindra et al. (2016) identificaram que um único gene dominante, controla a resistência à antracnose causada pelo fungo *C. trucatum* no feijão preto. Jacobs et al. (2018), ao estudarem os parâmetros genéticos envolvidos no controle da resistência a antracnose em morangueiro, também reportaram valores de aditividade e dominância relativamente baixos, indicando que o controle genético da resistência é de efeito epistático. Os estudos referenciados da antracnose em diferentes espécies, apesar da ampla patogenicidade do gênero *Colletotrichum* e a variabilidade nas combinações hospedeiro-patógeno (CHETHANA; CHOWDAPPA; PAVANI, 2015) indicam que a resistência à antracnose é de herança simples, controlada por poucos genes, como o estimado para mangueira no presente estudo.

Estimativas de parâmetros genéticos

A variância genética entre plantas foi significativamente inferior à variância genética dentro de plantas (Tabela 2), possivelmente porque ‘Tommy Atkins’ era um pai em ambos os cruzamentos. Esses resultados indicam a existência de variabilidade genética dentro das populações para resistência à antracnose, possibilitando a identificação de indivíduos resistentes. Quando comparadas as variâncias ambientais e a fenotípica individual, esta última apresentou o maior valor (Tabela 2), indicando pequena influência ambiental na expressão do caráter, bem como a confirmação da mensuração correta do fenótipo, uma vez que o genótipo teve maior contribuição.

As variâncias parentais (δ^2) para 'Haden,' 'Tommy Atkins' e 'Keitt' foram 40,27, 132,46 e 36,48, respectivamente, enquanto as variâncias F_2 ($\delta_{F_2}^2$) para 'Haden' × 'Tommy Atkins' e 'Keitt' × 'Tommy Atkins' foram 949,20 e 423,60, respectivamente. De acordo com a fórmula clássica de Burton (Burton, 1951), a herdabilidade no sentido amplo correspondeu a 91,0% e 90,4% para 'Haden' × 'Tommy Atkins' e 'Keitt' × 'Tommy Atkins', respectivamente, estimativas essas próximas às obtidas com modelo REML/BLUP, estimado em 88% e 78% para 'Haden' × 'Tommy Atkins' e 'Keitt' ×

‘Tommy Atkins’, respectivamente, indicando que a expressão fenotípica de resistência à antracnose é de herança simples (Tabela 2).

A estimativa da herdabilidade ampla pela equação de Burton deve ser considerada como a herdabilidade máxima, uma vez que a variância genética total inclui variâncias de efeitos aditivos, de dominância e epistáticos (BURTON, 1951). Não há dados disponíveis de outros estudos para comparar o modelo de Burton com o modelo REML/BLUP, e a estimativa de herdabilidade no sentido amplo de Burton deve ser usada como um valor inicial da interação do modelo REML/BLUP em outros estudos.

Tabela 2. Estimativas dos parâmetros genéticos por REML/BLUP para resistência a antracnose *Colletotrichum siamense* em *Mangifera indica*.

Parâmetros genéticos	H × T	K × T
Variância genética entre plantas	192,24	135,98
Variância genética dentro de plantas	526,17	776,77
Variância ambiental	65,77	95,84
Variância fenotípica individual	784,18	998,60
Herdabilidade ampla individual entre indivíduos	0,88	0,78
Coeficiente de variação genotípica (%)	37,49	31,82
Coeficiente de variação residual (%)	62,03	75,00
Coeficiente de variação relativo	0,60	0,42
Acurácia de seleção	0,94	0,90
Média	36,97	36,88

H × T = ‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’; K × T = ‘Keitt’ × ‘Tommy Atkins’ mango crosses.

Seleção de progêneres resistentes

Dez progêneres foram classificadas como resistentes à antracnose, com um índice de seleção de 7% para o BLUP individual (Tabela 3), incluindo HT36 do cruzamento entre ‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’, que possivelmente tem algum nível de resistência ao patógeno. Os valores de acurácia de seleção encontrados foram altos, >75,9%, o que indica precisão no valor genotípico avaliado. Em geral, os indivíduos selecionados no presente estudo apresentaram valores de ganho genético superiores a 17,1%, com média de 23,3% para a resistência à antracnose (Tabela 3). Das dez progêneres selecionadas, apenas duas vieram do cruzamento ‘Keitt’ × ‘Tommy Atkins’, enquanto oito vieram do cruzamento ‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’ (Tabela 3), possivelmente devido ao tamanho populacional maior e à situação de retrocruzamento, uma vez que ‘Haden’ é o pai de ‘Tommy Atkins’ (SCHNELL et al., 2006).

As progêneres HT33 e HT43 apresentaram valores genéticos e resistência em campo > 97%, indicando alta resistência ao patógeno (Tabela 3). Os valores genéticos estimados e

os valores de resistência à antracnose em campo foram muito próximos em todas as progênies selecionadas (Tabela 3). Essas progênies apresentam maior potencial para o melhoramento genético por apresentarem valores genotípicos e resistência à antracnose em campo, próximos a 100% após três avaliações. Coelho et al. (2018), relataram progênies de mangueira com quase 100% de resistência a duas importantes doenças da mangueira no semiárido brasileiro.

Tabela 3. Valor genotípico, ganho genético (%) e acurácia de seleção com o melhor preditor linear não-viesado (BLUP) e avaliação de resistência em campo (ARC) em dois cruzamentos em mangueira.

Progénie	Valor genotípico	Ganho (%)	Acurácia de	ARC
			seleção	
HT33	97,67a	27,91	80,81	97,83
HT43	97,33a	27,55	80,64	97,55
HT85	91,33a	24,73	77,51	91,66
KT95	91,33a	17,41	74,10	91,66
HT67	90,67ab	27,19	77,00	90,83
HT38	90,33ab	23,99	77,16	90,33
KT13	90,33ab	17,09	73,70	90,50
HT54A2	89,67ab	23,75	76,64	90,00
HT103	89,33ab	23,59	76,77	89,72
HT36	89,32ab	23,18	75,94	88,61

KT= ‘Keitt’ × ‘Tommy Atkins’, HT= ‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’. Progênies seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CONCLUSÃO

Os resultados indicam alta herdabilidade e herança simples para resistência a antracnose em mangueira, possibilitando a obtenção de progênies resistentes na primeira geração, após cruzamentos entre acessos resistentes. Os acessos resistentes podem ser propagados por clonagem simples para manter o caráter de resistência.

As progênies identificadas no presente estudo devem ser avaliadas para outros caracteres agronômicos e podem ser recomendadas como novas cultivares de mangueira, com moderada a alta resistência ao patógeno. A redução no número de aplicações de fungicidas para o controle de *C. siamense* contribuirá para o melhoramento da mangueira, mesmo que progênies 100% tolerantes não sejam identificadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADIKSHITA, I. M. S., SHARMA, M. Screening of mango germplasm under natural epiphytic conditions against anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). **Indian Phytopathology**, n. 71, v. 2, p.285-289, 2018.
- ARRIEL, D. A. A.; GUIMARÃES, L. M. S.; RESENDE, M. D. V.; NETO, F. P. L.; SILVA, D. F. S. H. S.; SIQUEIRA, D. L.; ALFENAS, A. C. Genetic Control of Resistance on *Mangifera indica* to Ceratosystis Wilt. **Scientia Horticultura**, v. 211, p. 312-318, 2016.
- ARAUZ, L.F. Mango anthracnose: economic impact and current options for integrated and management. **Plant Disease**, St, Paul, v. 84, n. 6, p. 600-611, 2000. Doi: 10.1094/PDIS.2000.84.6.600.
- BALLY, I. S. E.; DILLON, N. Mango (*Mangifera indica* L.). In: AL-KHAYRI, J. M., JAIN, S., JOHNSON, D.V. (Eds.), **Breeding Advances in Plant Breeding Strategies: Fruits**, p. 811-896, 2018. Mareeba, Australia.
- BESHIR, M. M.; OKORO, P.; AMMED, N. E.; RUBAIHAYO, P.; ALI, A. M.; KARIM, S. Resistance to anthracnose and turicum leaf blight in sorghum under dual infection. **Plant Breeding**, v. 135, p. 318-322, 2016.
- BHAGWAT, R. G.; MEHTA, B. P.; PATIL, V. A.; SHARMA, H. Screening of cultivars/varieties against mango anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **International Journal of Environmental & Agriculture Research**, v. 1. n. 1, p. 21-23, 2015.
- BINDRA, S.; MITAL, R. K.; SOOD, V. K.; SHARM, P.N. Inheritance of resistance in urdbean (*Vigna mungo*) to anthracnose caused by *Colletotrichum truncatum*. **Indian Phytopathology**, v. 69, n. 3, 2016.
- BURTON, G.W. Quantitative inheritance in pearl millet (*Pennisetum glaucum*). **Agronomy Journal**, v.43, p. 409–417, 1951.

CARVALHO, C., KIST, B. B; BELING, R. R. Brazilian horti&fruit yearbook (Santa Cruz do Sul: **Editora Gazeta Santa Cruz**), 2019.

CHETHANA, C. S.; CHOWDAPPA, P.; PAVANI, K. V. *Colletotrichum truncatum* and *C. fructicola* causing anthracnose on chilli in Karnataka state of Indi. **Indian Phytopath.**, v. 68, n.1, p. 270-278, 2015.

CRUZ, C. D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**, v. 38, n.4, p.547-552, 2016.

COELHO, W. C. P.; SANTOS, C. A. F; BATISTA, D. C. Inheritance of resistance to dieback disease in mango (*Mangifera indica*). **Australian Journal of Crop Science**, v. 12, n. 13, p. 467-471 (Online), 2018. doi: 10.21475 / ajcs.18.12.03.pne949.

DEMBELE, D. D.; AMARI, L. D. G. E.; CAMARA, B.; GRECHI, I.; REY, KONE, D. Pre and postharvest assessment of mango anthracnose incidence and severity in the north of Côte d'Ivore. **International Journal Biological and Chemical Science**, v.13, n.6, p. 2726-2738, 2019. Doi: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v13i6.24>

DHINGRA, O. D, SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. (Ed). CRC. Press, Boca Raton, Flórida, 1995.

ERPELDING, J. E. Inheritance of Anthracnose Resistance for the Sorghum Cultivar Redlan. **Plant Pathology Journal**, n. 6, p.187-190, 2007.

GALÁN SAÚCO, V. Trends in world mango production and marketing. **Acta Hortic.** V. 1183, p.351-364, 2017.

GONG, D. Q.; ZHU, S. J.; GU, H.; ZHANG, L. B.; HONG, K. Q.; XIE, J. H. Disease resistance of 'Zill' and 'Keitt' mango fruit to anthracnose in relation to defence enzyme activities and the content of anti-fungal substances. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 88, n.3, p. 243-250, 2013.

GUPTA, S.; SINGH, K. P.; SINGH, A. K. Resistance to anthracnose disease in commercial cultivars to hybrids of mango. **Plant Pathology Journal**, v.14, n. 4, p. 225-258, 2015.

HASSAN, M. K.; DANN, E. K.; IRVING, D. E.; COATES, L. M. Concentrations of constitutive alk(en)ylresorcinols in pell of commercial mango varieties and resistance to postharvest anthracnose. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 71, p.158-165, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2007.12.005>.

JACOBS, R. L.; ADHIKARI, T. B.; PATTISON, J.; YENCHO, G. C.; FERNANDEZ, G. E.; LOUWS, F. J. Inheritance of Resistance to Clletotrichum gloesporioides and C. acutatum in Strawberry. **Phytopathology**, v. 109, p. 428-435, 2018.

LIMA, N. B.; BATISTA, M. V. A.; MORAIS, M. A.; BARBOSA, M. A. G.; MICHEREFF, S. J.; HYDE, K. D.; CÂMARA, M. P. S. Five Colletotrichum species are responsible for mango anthracnose in northeastern Brazil. **Fungal Diversity**, v. 61, p.75-88, 2013. doi: 10.1007 / s13225-013-0237-6

MASIBO, M; HE, Q. Mango Bioactive Compounds and Related Nutraceutical Properties - A Review. **Food Reviews International**, v. 25, n. 4, p346–370, 2009.

NATARAJ, V., MARANNA, S., KUMAWAT, G.; GUPTA, S., RAJPUT, L. S., KUMAR, S., SHARMA, A. N.; BHATIA, V. S. Genetic inheritance and identification of germplasm sources for anthracnose resistance in soybean [Glycine max (L.) Merr.]. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10722-020-00917-4>.

OGATA, T.; YAMANAKA, S.; SHODA, M.; URASAKI, N.; YAMAMOTO, T. Current status of tropical fruit breeding and genetics for three tropical fruit species species cultivated in Japan: pineapple, mango, and papaya. **Breeding Science**, v. 66, p.69-81, 2016.

ONYEANI, C. Susceptibility of mango varieties to anthracnose fruit rot in south west Nigeria. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, v. 12, n. 2, p. 95-99, 2017. doi: 10.3844/ajabssp.2017.

RESENDE, M. D. V. Software Selegen-REML/BLUP: a useful tool for plant breeding. **Crop Breed.** Appl. Biotechnol. v. 16, p330-339, 2010.

SCHNELL, R.; BROWN, J. S.; OLANO, C.; MEEROW, A.; CAMPBELL, R.; KUHN, D. Mango genetic diversity analysis and pedigree inferences for Florida cultivars using microsatellite markers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 131, n. 2, p. 214-224, 2006. doi: 10.21273 / JASHS.131.2.214

SUWOR, P.; SANITCHON, J.; THUMMABENJAPONE, P., KUMAR, S.; TECHAWONGSTIEN, S. Interitance analysis of anthracnose resistance and marker-assisted selection in introgression populations of chile (*Capsicum annun L.*) **Scientia Horticulturae**, v. 220, p. 20-26, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.03.032>

TERAO, D.; BATISTA, D. C.; RIBEIRO, I. J. A. Doenças da mangueira (*Mangifera indica*. L). In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. (5^a eds). São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, p. 224-533, 2016.

TUCHO, A.; LEMESSA, F., BERECHA, G. Distribution and Occurrence of Mango Anthracnose (*Colletotrichum gloesporioides* Penz and Sacc) in Humid Agro-ecology of Southwest Ethiopia. **Plant Pathology Journal**, v.13, p.268-277, 2014. doi:10.3923 / ppj.2014.268.277

VITALE, A.; ALFENAS, A. C.; SIQUEIRA, D. L.; MAGISTA, D.; PERRONE, G.; POLIZZI, G. Cultivar resistance against *Colletotrichum asianum* in the world collection of mango germplasm in southeastern Brazil. **Plants**, v. 9, n. 2, p.182, 2020. doi: 10.3390/plants9020182.

WANG, P; LUO, Y; HUANG, J; GAO, S; ZHU, G; DANG, Z; GAI, J; YANG, M; ZHU, M; ZHANG, H. The genome evolution and domestication of tropical fruit mango. **Genome Biology.** v. 21, 60p, 2020.

CAPÍTULO II – ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA PARA RESISTÊNCIA À MORTE DESCENDENTE EM UMA POPULAÇÃO PSEUDO-F₂ DE MANGUEIRA

Associação genômica ampla para resistência à morte descendente em uma população pseudo-F₂ de manga

Resumo

Lasiodiplodia theobromae e *Neofusicoccum parvum* são fungos importantes que afetam a mangueira no Nordeste brasileiro. Estudos de associação genômica ampla (GWAS) em uma população pseudo-F₂ de mangueira foram realizados para ambos os fungos para apoiar o desenvolvimento de novas cultivares. Para a Genotipagem foram analisados marcadores de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) e microssatélites em 95 plantas, por meio da associação alélica e genotípica, além de modelos linear (GLM) e linear misto (MLM). Foram identificadas associações genômicas de consenso no cromossomo 12, posição 10,60 Mb (Mi_0096) e 1 (Mango_rep_c1316) posição 14,67 Mb, com associação ($P<0,0049$) a *L. theobromae* loci, representando 20% da variação total. Regiões adicionais identificadas nos cromossomos 11 e 8 (posições 24,57 Mb e 9,34 Mb, respectivamente), por GLM e MLM, explicaram 36% da variação total para essa doença. Foram identificadas associações genômicas de consenso nos cromossomos 2, posição 20,49 Mb (Mango_rep_c9407) e 9, posição 15,01 Mb (Mango_rep_c8984), com associação ($P<0,006$) para *N. parvum* loci, representando 20,6% da resistência total para este fungo. Regiões adicionais identificadas no cromossomo 12 (Mango_rep_c7620), posição 14,29 mb, por GLM e MLM, explicam 28,7% da variação total desta doença. Essas regiões cromossômicas são candidatas à saturação com SNPs ou mineração adicional do genoma para aplicar seleção assistida por marcadores em mangueira.

Palavras-chave: *Mangifera indica*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Neofusicoccum parvum*, GWAS, Plink, Tassel

Abstract

Lasiodiplodia theobromae and *Neofusicoccum parvum* are important fungi affecting mango trees in Northeast Brazil. Genome-wide association studies (GWAS) in a mango pseudo-F₂ population were performed on both fungi to support the development of new cultivars. For Genotyping, single nucleotide polymorphism (SNP) and microsatellite markers were analyzed in 95 plants, through allelic and genotypic association, in addition to linear (GLM) and mixed linear (MLM) models. Consensus genomic associations were identified on chromosome 12, position 10.60 Mb (Mi_0096) and 1 (Mango_rep_c1316)

position 14.67 Mb, with an association (P -value<0.0049) to *L. theobromae* loci, accounting for 20% of the total variation. Additional regions identified in chromosomes 11 and 8 (positions 24.57 Mb and 9.34 MB, respectively), by GLM and MLM, explain 36% of the total variation of this disease. Consensus genomic associations were identified on chromosomes 2, position 20.49 Mb (Mango_rep_c9407) and 9, position 15.01 Mb (Mango_rep_c8984), with an association (P -value<0.006) to *N. parvum* loci, accounting for 20.6% of total resistance to this fungus. Additional regions identified in chromosome 12 (Mango_rep_c7620), position 14.29 MB, by GLM and MLM, explain 28.7% of the total variation of this disease. These chromosomal regions are candidates for saturation with SNPs or further genome data mining to apply marker-assisted selection in mangoes.

Keywords: *Mangifera indica*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Neofusicoccum parvum*, GWAS, Plink, Tassel

INTRODUÇÃO

A produção mundial de manga atingiu 57 milhões de toneladas em 2021 aumentando 8,3% desde 2017, com Índia, China e Tailândia respondendo por 55% da produção global (FAO, 2021). México, Tailândia, Holanda, Peru, Brasil e Índia responderam por 70% das exportações de manga em 2018, enquanto os Estados Unidos da América, Holanda, Vietnam, Alemanha, Reino Unido da Grã-Bretanha e Irlanda e o Norte dos Emirados Árabes responderam por 60% das importações de manga em 2018 (FAO, 2021). Os frutos da mangueira têm uma aparência visual atraente (WANG et al., 2020) e a popularidade da manga está em alta devido ao seu alto valor nutracêutico e farmacêutico, incluindo o polifenol mangiferina, o mais abundante e de propriedade bioativa (MASIBO e ELE, 2009). Para Galán Saúco (2017), os consumidores europeus e norte-americanos preferem frutos coloridos e relação açúcar/acidez bem equilibrada, e as cultivares da Florida, EUA, dominam o mercado global de exportação de frutas frescas.

A mangueira (*Mangifera indica* L., $2n = 40$) é uma árvore frutífera originária da Índia, do Assam a Mianmar, e a espécie se espalhou para o sudeste da Ásia e posteriormente para a África e América (DUVAL et al., 2005). No Brasil, navegadores portugueses introduziram as primeiras variedades cultivadas da mangueira no século XVI (MUKHERJEE e LITZ, 2009). O período juvenil da mangueira varia de três a sete anos, e as árvores podem permanecer em pomares por centenas de anos (MUKHERJEE e LITZ, 2009). O longo período juvenil da mangueira destaca a importância de métodos de

biotecnologia, como a seleção assistida por marcadores (MAS), para acelerar a obtenção de novas cultivares.

A mangicultura é afetada por diversas doenças, e as causadas por *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon e Maubl e *Neofusicoccum parvum* Pennycook e Samuels, do complexo de Botryosphaeriaceae, são as mais comuns no Nordeste do Brasil. A morte descendente é um dos principais sintomas observados em plantas infectadas por esses dois fungos (COELHO et al., 2018). Sem controle ou manejo, as plantas afetadas por esses fungos começam a declinar e morrer, e a poda para restaurar a saúde vegetal torna o processo mais caro porque não é possível curar uma planta através apenas de aplicações de fungicida (COELHO et al., 2020).

Os estudos de herança de doença da mangueira estão restritos a estimativas de parâmetros genéticos, e o mapeamento de doenças não está disponível. O sequenciamento e montagem do genoma da mangueira a nível de cromossomo, feito para a cv. Alphonso (WANG et al., 2020), torna possível realizar associação de características e mapeamento preciso nesta espécie. Dautt-Castro et al. (2019) relatam estudos de associação genômica ampla (GWAS) de poligalacturonases em mangueira com base no genoma de Tommy Atkins. Harper et al. (2016) relatam transcriptoma associativo da doença da morte descendente ('dieback') de *Fraxinus excelsior*, identificando marcadores fortemente associados a danos do dossel em árvores infectadas, possibilitando a identificação de indivíduos com baixo nível de suscetibilidade à doença em árvores não aparentadas.

Aqui relatamos a aplicação de GWAS para identificar polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs) e microssatélites loci associados a *L. theobromae* e *N. parvum* para apoiar o desenvolvimento de MAS para o desenvolvimento de novas cultivares de mangueira.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e extração de DNA

Noventa e cinco plantas pseudo-F₂ de 'Haden' × 'Tommy Atkins' foram obtidas pela identificação de duas plantas isoladas 'Haden' cercadas por centenas de plantas 'Tommy Atkins' em um pomar comercial, localizado em Petrolina - PE, Brasil. As progêniens foram desenvolvidas em um viveiro e, após atingirem 50 cm de altura, foram transplantadas em 2002 na Estação Experimental Mandacaru na Embrapa, Juazeiro- BA, Brasil. O manejo da cultura foi o mesmo adotado para mangueira nesta região, incluindo indução floral precoce com o retardante de crescimento vegetal paclobutrazol (PBZ) e aplicações de

nitrato de potássio associados à poda e irrigação. Plantas autofecundadas e ‘off-type’ foram identificadas previamente por marcadores SNPs e excluídas das análises genéticas. De acordo com Coelho et al. (2020), ‘Haden’ é resistente enquanto ‘Tommy Atkins’ é suscetível a ambos os fungos, com base na avaliação em três períodos diferentes de inoculação. Essa população faz parte do programa de melhoramento da mangueira da Embrapa na região semiárida brasileira, Petrolina, PE, como cidade de referência, sendo uma das regiões de destaque da exportação de manga no mundo.

O DNA foi extraído de folhas saudáveis e jovens coletadas na Estação Experimental de Mandacaru para cada planta pseudo-F₂, de acordo com o protocolo CTAB 2x, com pequenas modificações (RIBEIRO et al., 2012). Após a extração, a integridade do DNA foi verificada no gel de agarose 0,8%, seguida pela quantificação em fluorescência e diluição para 10 ng/uL.

Fenotipagem para *L. theobromae* e *N. parvum*

Isolados de *L. theobromae* e *N. parvum* foram fornecidos pelo laboratório de micologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife - PE. Os fungos foram cultivados por 15 dias em meio de cultura de ágar-água em placas de Petri e os conídios foram extraídos removendo picnídios presentes nas colônias. Picnídios foram macerados com auxílio de cadinho contendo água destilada esterilizada. A suspensão do inóculo foi filtrada com auxílio de uma gaze e contada em câmara de Neubauer, ajustada para 10³ conídios/mL.

A suspensão do inóculo de 10³ conídio/mL foi pulverizada suavemente, com o auxílio de um pulverizador manual, em ramos saudáveis com folhas jovens, até que ocorreu o escoamento (COELHO et al., 2018). Após a pulverização, o ramo foi protegido em uma câmara úmida feita de sacos plásticos umedecidos com água destilada esterilizada, por 48 horas. Para evitar a queima de folhas e galhos pela incidência de radiação solar, os sacos plásticos foram cobertos com sacos de papel. Os sintomas de ‘dieback’ foram avaliados cinco dias após a abertura da câmara úmida. Este procedimento foi repetido três vezes para ambos os patógenos, em períodos diferentes, em cada planta ‘Haden’ × ‘Tommy Atkins’.

O método de avaliação dos sintomas da doença foi uma adaptação do método percentual de infecção descrito por Coelho et al. (2018): planta sem sintomas = (Número de ramos sem sintomas/número total de galhos inoculados) x 100. Plantas sem sintomas com média superior a 90% foram consideradas resistentes a *L. theobromae* e *N. parvum*.

Plantas com percentual menor que 90% em uma avaliação também foram consideradas suscetíveis aos patógenos.

Genotipagem, mapeamento físico e análise estatística

As plantas pseudo-F₂ foram genotipadas com 705 SNP, como descrito por Kuhn et al. (2017). Cinquenta e quatro loci de microssatélites foram genotipados, conforme descrito por Ribeiro et al. (2012), após a triagem inicial de um grande número desse marcador publicado por Duval et al. (2005), Viruel et al. (2005), Honsho et al. (2005), Schnell et al. (2005), Ravishanka et al. (2011), Alves et al. (2016) e Dillon et al. (2014). Marcadores e plantas com dados ausentes superiores a 10% foram excluídos do conjunto de dados.

Para associações genômicas qualitativas e a presença ou ausência de sintomas da morte descendente foram realizados testes alélicos com e sem o teste exato de Fisher, bem como associação genotípica pelo teste Cochran-Armitage trend, sem ajustes de valor P para Bonferroni, sendo essas análises implementadas com o programa DOS Pink 1.9 (PURCELL et al., 2007). As plantas foram codificadas 1 para suscetíveis (presença de sintomas <90%) e 2 para resistentes (ausência de sintomas > 90%) tanto para *L. theobromae* quanto para *N. parvum*.

Para associações genômicas quantitativas as análises foram realizadas com o modelo linear generalizado (GLM) e linear misto (MLM) disponíveis no software Tassel 5.2.65 (BRADBURY et al., 2007). Na análise GLM para *L. theobromae*, os dados de genotipagem e de fenotipagem mais a matriz dos componentes principais (CP) foram considerados, e para a análise MLM, uma matriz idêntica por sequência (IBS), estimada utilizando-se o Plink 1.9 (PURCELL et al., 2007), foi incluída. Na estimativa de CP, considerou-se o acúmulo de 50% da variação total nos primeiros autos vetores (BRADBURY et al., 2007). Na análise GLM para *N. parvum* foram considerados apenas os dados de genotipagem e fenotipagem, enquanto na análise MLM foi considerado adicionalmente a matriz IBS utilizando o programa Plink 1.9 (PURCELL et al., 2007). Os dados percentuais foram transformados em arco seno + 0,01 para *L. theobromae* e *N. parvum*, respectivamente.

As sequências de SNPs foram publicadas por Kuhn et al. (2017), enquanto sequências de microssatélites foram obtidas no GenBank. SNPs e sequências de microssatélites foram analisadas ('blast') no genoma de *M. indica* (WANG et al., 2020) disponível na NCBI. Um loci foi designado para um cromossomo de mangueira com

base no baixo ‘e-value’ e alto ‘bit-score’. SNPs e microssatélites foram ordenados em cada cromossomo em uma planilha do Excel.

RESULTADOS

Apenas quatro e 14 plantas pseudo-F₂ foram resistentes (>93%) para *L. theobromae* e *N. parvum*, respectivamente, nas três inoculações de campo realizadas. Os sintomas das doenças avaliadas foram característicos da morte descendente, notadas por um ressecamento progressivo das folhas e ramos. Foram feitas podas para impedir avanços da doença ao tronco que podem resultar em morte da planta e perda da população segregante.

Associação genômica qualitativa - teste alélico e genotípico

Para *L. theobromae*, quatro SNPs foram identificados no cromossomo 12 pela associação alélica, um SNP pelo teste exato de Fisher, no cromossomo 12, e quatro SNPs pelo teste genótipo de Cochran-Armitage: um no cromossomo 12, dois no cromossomo 1 e um no cromossomo 16 (Tabela 1). O SNP comum nestas análises foi Mi_0096, com valor P<0,008397 (Tabela 1), no cromossomo 12, tornando-se um forte candidato à associação com loci da resistência a *L. theobromae*.

Tabela 1. SNPs com associação estatística alélica e genotípica (P<0,02) para resistência a *Lasiodiplodia theobromae* em uma população de mangueira pseudo-F₂ de 'Haden' × 'Tommy Atkins'.

SNP	Cromossomo	Posição (pb)	P
Teste exato de Fisher			
Mi_0096	12	10604128	0.008184
Teste alélico			
Mi_0096	12	10604128	0.007949
Mango_rep_c59614	12	14675191	0.0142
Mi_0287	12	14543232	0.0154
Mi_0070	12	15285720	0.01555
Teste genótipo de Cochran-Armitage			
Mi_0096	12	10604128	0.008397
Mango_rep_c1316	1	24576970	0.008895
Mango_rep_c5591	16	8818242	0.01818
Mi_0110	1	2534890	0.01978

Para *N. parvum*, sete SNPs foram identificados nos cromossomos 4 e 11 pelo teste alélico, seis SNP pelo teste exato de Fisher, nos cromossomos 4 e 11, e oito SNPs pelo

teste genotípico Cochran-Armitage, nos cromossomos 11, 4, 1 e 9 (Tabela 2). Os SNPs Mi_0140, Mi_0244, Mi_0433 e Mi_0294 foram comuns nestas análises, com valor $P < 0,006940$ (Tabela 2), nos cromossomos 4 e 11, sendo fortes candidatos para associação com a resistência a *N. parvum*.

Tabela 2. SNPs com associação estatística alélica e genotípica ($P < 0,009$) para resistência a *Neofusicoccum parvum* em uma população pseudo- F_2 de mangueira de 'Haden' × 'Tommy Atkins'.

SNP	Cromossomo	Posição (pb)	P
Teste exato de Fisher			
Mi_0140	4	17199651	0.002642
Mi_0244	11	869763	0.008104
Mi_0433	11	2102539	0.008104
Mi_0294	11	896127	0.008657
Mi_0405	4	17245187	0.009457
Teste alélico			
Mi_0140	4	17199651	0.00228
Mi_0244	11	869763	0.004439
Mi_0433	11	2102539	0.004439
Mi_0294	11	896127	0.006527
Mi_0405	4	17245187	0.008002
Contig2867	4	15515955	0.00903
Mango_rep_c9407	2	20496307	0.00974
Teste genotípico de Cochran-Armitage			
Contig2867	4	15515955	0.002721
Mi_0030	1	22890486	0.003674
Mi_0140	4	17199651	0.004609
Mi_0244	11	869763	0.004927
Mango_rep_c8984	9	15016915	0.005247
Mi_0294	11	896127	0.006439
Mi_0433	11	2102539	0.006940
Mango_c33092	4	18064217	0.007244

Associação genômica quantitativa - modelos lineares e lineares mistos

Quatro SNPs foram associados ao loci controlando a resistência *L. theobromae* (valor $P < 0,0049$) na análise GLM e esses mesmos SNPs apresentaram associação significativa, mas com valor P diferente, na análise MLM (Tabela 3, Figura1). Foram identificados SNPs nos cromossomos 12, 1, 11 e 8 do genoma da mangueira, com R^2 variando de 7,27% a 11,37% (Tabela 3). Três SNPs apresentaram associação significativa com loci controlando a resistência *N. parvum* (valor $P < 0,006$) na análise GLM e MLM

(Tabela 4, Figura 2). Foram identificados SNPs nos cromossomos 2, 9 e 12 do genoma da mangueira, com R^2 variando de 8,0% a 11,2% (Tabela 4).

Os SNPs Mi_0096 e Mango_rep_c1316 apresentaram associação com a resistência loci a *L. theobromae*, tanto no teste genotípico "Cochran-Armitage" quanto nas análises GLM e MLM (Tabelas 1 e 3), tornando-os fortes candidatos a análise suplementar. Os SNPs Mango_rep_c9407 e Mango_rep_c8984 apresentaram associação com a resistência loci à *N. parvum* tanto nos testes alélico quanto genotípico, bem como nas análises GLM e MLM (Tabela 2 e 4), tornando-os fortes candidatos a análises adicionais.

Tabela 3. SNPs com associação significativa* ($P<0.007$) e coeficiente de determinação (R^2) pelo Modelo Linear (GLM) e Modelo Linear Misto (MLM) para resistência a *Lasiodiplodia theobromae* em uma população pseudo-F₂ de mangueira 'Haden' × 'Tommy Atkins'.

SNP	Cromossomo	Posição (pb)	P	R^2
GLM				
Mi_0096	12	10604128	0.00162	0.11371
Mango_rep_c1316	1	24576970	0.00195	0.08715
SSKP031C1_A370G	11	10604128	0.00223	0.08963
Mi_0278	8	9349041	0.0049	0.07272
MLM				
Mango_rep_c1316	1	24576970	0.00339	0.08715
SSKP031C1_A370G	11	10604128	0.00435	0.08963
Mi_0096	12	10604128	0.00446	0.11371
Mi_0278	8	9349041	0.00717	0.07272

* Dados percentuais para sintomas de *L. theobromae* transformados em arcoseno + 0,01

Tabela 4. SNPs com associação significativa* ($P<0.02$) e coeficiente de determinação (R^2) pelo Modelo Linear (GLM) e Modelo Linear Misto (MLM) para resistência a *Neofusicoccum parvum* em uma população pseudo-F₂ de mangueira 'Haden' × 'Tommy Atkins' pseudo-F₂.

SNP	Cromossomo	Posição (pb)	P	R^2
GLM				
Mango_rep_c8984	9	15016915	0.001318	0.112434
Mango_rep_c9407	2	20496307	0.002605	0.094316
Mango_rep_c7620	12	14293252	0.006896	0.080037
MLM				
Mango_rep_c8984	9	15016915	0.002425	0.112434
Mango_rep_c9407	2	20496307	0.003893	0.094316
Mango_rep_c7620	12	14293252	0.010592	0.080037

* Dados percentuais para sintomas de *N. parvum* transformado em arco seno.

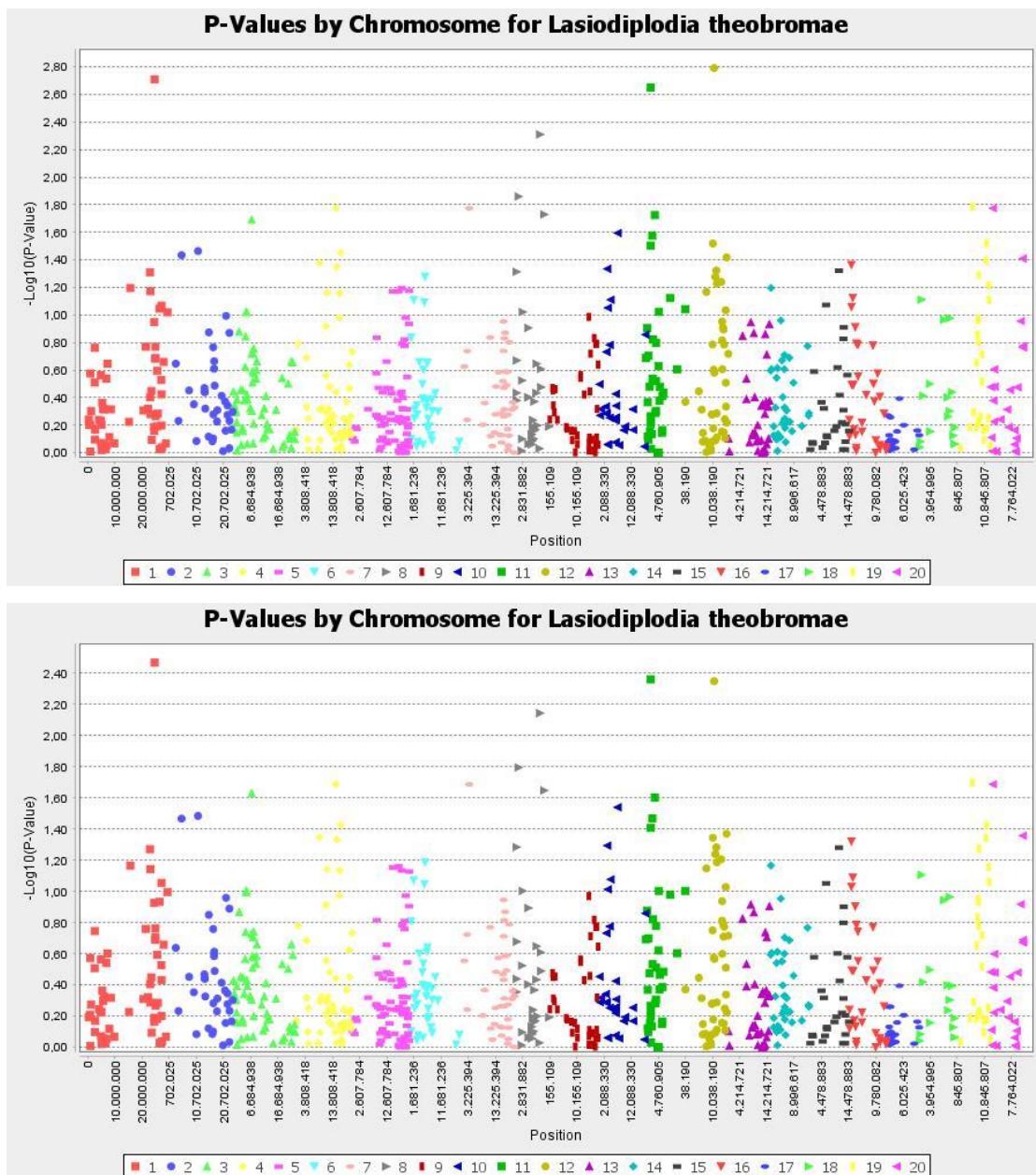


Figura 1. Plot de Manhattan para SNPs com associação para resistência a *Lasiodiplodia theobromae* em população pseudo-F₂ de manga 'Haden' × de 'Tommy Atkins': (A) Linear (GLM), (B) Linear Misto (MLM).

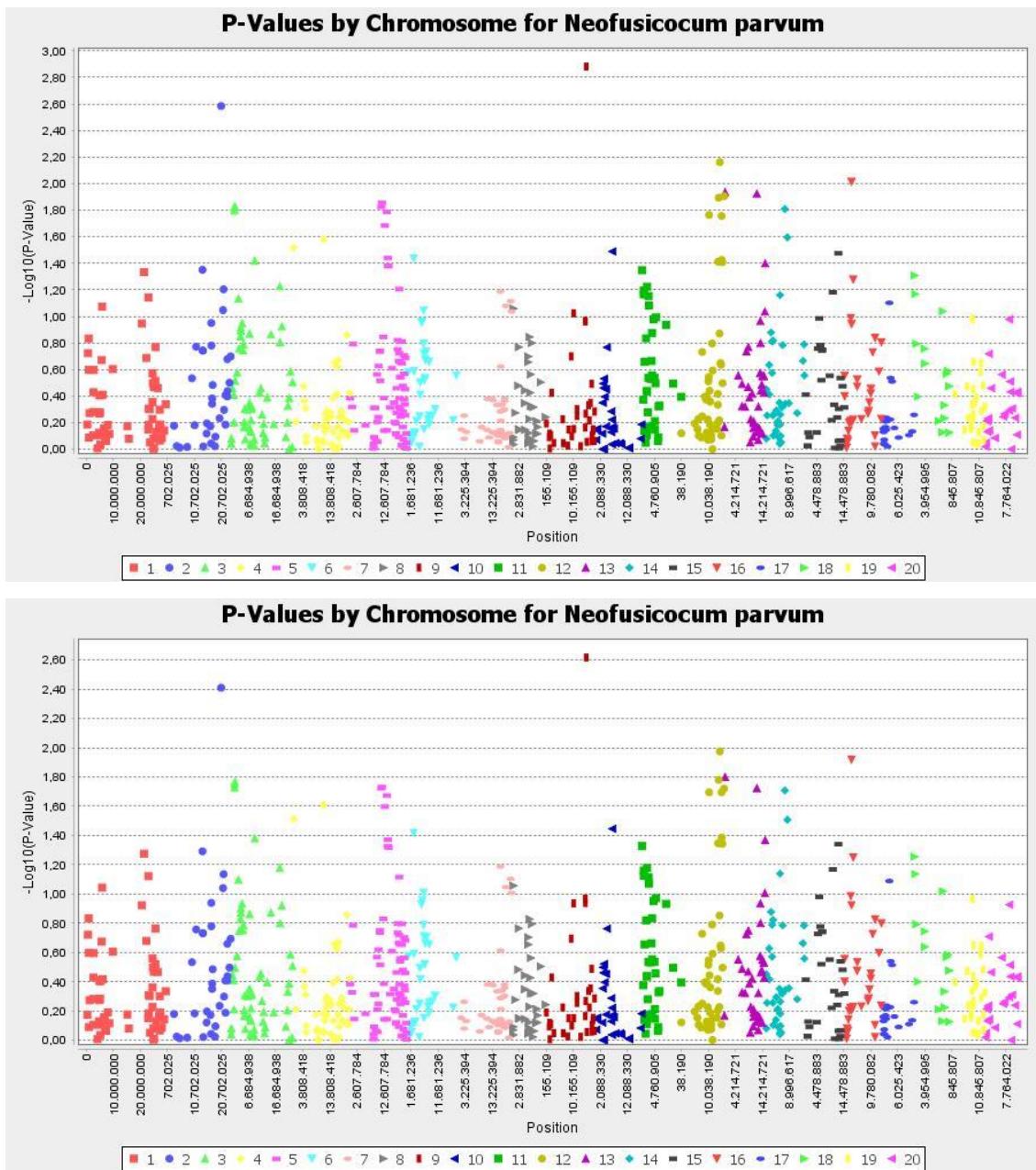


Figura 2. Plot de Manhattan para SNPs com associação para resistência a *Neofusicoccum parvum* em população pseudo-F₂ de mangueira de 'Haden' × 'Tommy Atkins': (A) Linear (GLM), (B) Linear Misto (MLM).

DISCUSSÃO

Os estudos genéticos da mangueira e o desenvolvimento de novas cultivares são dificultados pelo longo período juvenil, pela poliembrionia nos acessos originados do Sudeste Asiático, incompatibilidade de cultivares, tamanho das plantas e uso de pequenas populações (BALLY; LU; JOHNSON, 2009). Essas desvantagens são parcialmente

compensadas pela multiplicação vegetativa de plantas com características comerciais: se uma planta superior for identificada, sua manutenção é perpetuada por clonagem.

Com o sequenciamento genômico da mangueira (WANG et al., 2020) e o desenvolvimento de SNPs, ainda em pequenos números, tornou-se possível realizar estudos para identificar alelos e/ou regiões cromossômicas associadas a caracteres desta frutífera. O objetivo final é aplicar a MAS para recomendar novas cultivares de manga com características desejáveis e atraentes e com resistência a diversas doenças da mangueira. Aqui relatamos um estudo pioneiro de associação ampla aplicado às principais doenças que afetam pomares comerciais de mangueira no Nordeste brasileiro.

Análises alélicas e genotípicas para *L. theobromae* indicam duas regiões no cromossomo 12, uma na posição 10604128 bp (Mi_0096) e outra na posição 14675191 bp (Mango_rep_c59614), duas outras regiões no cromossomo 1 nas posições 24576970 bp (Mango_rep_c1390) e 2534890 (Mi_0110), e uma região na posição 8818242 bp (Mango_rep_c5591) no cromossomo 16. No GLM e MLM para este mesmo fungo, foram identificadas duas regiões adicionais: uma no cromossomo 11, posição 10604128 bp (SSKP031C1_A370G) e outra no cromossomo 8, posição 9349041 bp (Mi_0278). As análises conjuntas, genotípica e alélica, GLM e MLM indicam duas regiões, uma no cromossomo 12 (Mi_0096) e outra no cromossomo 1 (Mango_rep_c1316) com forte associação com loci de resistência a *L. theobromae*. Essas duas regiões respondem por 20% da variação total de resistência à essa doença. Se forem adicionadas as demais regiões dos cromossomos 11 e 8, as regiões identificadas no presente estudo explicam 36% da variação total da doença.

Para *N. parvum*, as análises alélica e genotípica indicam duas regiões no cromossomo 4 nas posições 117199651/17245187 bp, duas no cromossomo 11, nas posições 869763/896127 bp e três nos cromossomos 2, 1 e 9, nas posições 20496307, 22890486 e 15016915 bp, respectivamente. O GLM e o MLM indicam três regiões nos cromossomos 9, 2 e 12 nas posições 15016915, 20496307 e 14293252 bp, respectivamente. As análises conjuntas, genotípica, alélica, GLM e ML indicam duas regiões nos cromossomos 2 (Mango_rep_c9407) e 9 (Mango_rep_c8984), respectivamente, com forte associação com os loci de resistência para *N. parvum*. Essas duas regiões explicam 20,6% da variação total a esse fungo, o que poderia ser de 28,7% da variação total dessa doença se uma região do cromossomo 12 (Mango_rep_c7620) for incluída.

Uma proporção considerável da variação total de resistência a ambos os fungos ainda está faltando, 64% e 71% para *L. theobromae* e *N. parvum*, respectivamente, provavelmente devido à baixa cobertura do genoma. Muitos dos SNPs do presente estudo foram selecionados a partir de milhares de transcritos de RNA (KUHN et al., 2016), algumas das quais podem ser regiões de codificação envolvidas na resistência a esses dois fungos. A saturação das regiões identificadas no presente estudo com SNPs adicionais permitirá desenvolver marcadores com alta eficiência para MAS em mangueira e fornecer informações sobre outros sistemas nos quais tais patógenos são importantes. Resende et al. (2018) relataram herdabilidade ($=R^2$) até $\sim 64\%$ para três características quantitativas de *Phaseolus vulgaris*, provavelmente devido à LD entre marcadores e genes e/ou variantes de alelos raros não amostradas. Os resultados do presente estudo estão de acordo com herança simples reportado por Coelho et al. (2018), baseado em estimativas de parâmetros clássicos, ao estudar ambos fungos em três cruzamentos de mangueira, incluindo a presente população pseudo-F₂ de 'Haden' × 'Tommy Atkins'.

Para análise qualitativa, presença x ausência de sintomas, os métodos alélicos e genotípicos têm diferentes suposições, com o teste de Fisher analisando o alelo como unidade de amostragem, em equilíbrio Hardy-Weinberg (HWE), enquanto Cochran-Armitage tem o indivíduo como unidade de amostragem, sem a necessidade de HWE. No geral as análises qualitativas foram consistentes, apresentando os mesmos SNPs. As análises GLM e o MLM apresentaram os mesmos resultados, sem impacto das matrizes dos componentes principais ou IBD, uma vez que as populações pseudo-F₂ se estruturaram como uma, sem a formação de 'clusters', como ocorre em acessos ou populações de diferentes origens.

O desenvolvimento do mapa de ligação na população de Haden × Tommy Atkins de manga pseudo-F₂ resultou em até 23 grupos (dados não mostrados), (*M. indica* n = 20), dificultando análises de caracteres quantitativo tradicional (QTL) e comparações com estimativas da GWAS no presente estudo. Zuiderveen et al. (2016) reportaram análises independentes de GWAS e QTL para confirmarem regiões que controlam a resistência ao *Colletotrichum lindemuthianum* em *Phaseolus vulgaris*.

De acordo com Nagel et al. (2020), *N. Parvum* e *L. theobromae*, da família Botryosphaeriaceae, são patógenos bem conhecidos de culturas de plantas comercialmente e economicamente importantes, e os resultados do presente estudo podem apoiar o mapeamento cromossômico de uma ampla gama de espécies frutíferas,

incluindo uva, pomelo, *Eucalipto* spp., *Pinus* spp., cacau e coco. Shen et al. (2019) fornecem um exemplo rápido de mapeamento de gene candidato para resistência/suscetibilidade a quatro isolados de *Botryosphaeria dothidea* (complexo Botryosphaeriaceae) em macieiras.

As plantas resistentes e suscetíveis, codificadas para 2 e 1, respectivamente, são uma simplificação de um complexo sistema de planta-hospedeiro, mas permitiu a identificação de regiões cromossômicas para ambas as doenças, como comprovado quando as regiões também foram significativas nos modelos GLM e MLM, analisadas como caracteres de variação continua. Assim, as regiões SNP Mi_0096 (cromossomo 12) e Mango_rep_c1316 (cromossomos 1) para *L. theobromae* e as regiões dos SNPs Mango_rep_c9407 (cromossomos 2) e Mango_rep_c8984 (cromossomos 9) para *N. parvum* são fortes candidatas à saturação com maior número de SNPs ou mineração no genoma da manga.

CONCLUSÃO

Os SNPs Mi_0096, Mango_rep_c1316, Mango_rep_c9407 e Mango_rep_c8984, são fortes candidatos para o uso em seleção assistida por marcadores moleculares para resistência aos fungos *L. theobromae* e *N. parvum*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, E. O; LIMA NETO, F. P; SANTOS, C. A. F; RIBEIRO, I. C. N. S; MELO, C. A. F; HOLANDA I. S. A; SOUZA, A. P; CORRÊA, R. X. Genetic diversity of mango accessions (*Mangifera indica*) using new microsatellite markers and morphological descriptors. *Australian Journal Crop Science*, v. 10, p. 281-1287, 2016.
- BALLY, I. S; LU, P; JOHNSON, P. R. Mango Breeding. Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species, p. 51–82, 2009.
- BRADBURY, P. J; ZHANG, Z; KROON, D. E; CASSSTEVENS, T. M; RAMDOSS, Y; BUCKLER, E. S. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, v. 23 p. 2633-2635, 2007.

COELHO, W. C. P.; SANTOS, C. A. F; BATISTA, D. C. Inheritance of resistance to dieback disease in mango (*Mangifera indica*). **Australian Journal of Crop Science**, v. 12, n. 13, p. 467-471 (Online), 2018.

COELHO, W. C. P.; SANTOS, C. A. F.; BATISTA, D. C. Variability of mango accession resistance to dieback disease caused by *Lasiodiplodia theobromae* and *Neofusicoccum parvum*. **Amazonian Journal of Plant Research**, v. 4, n. 1, p.462-468, 2020.

DAUTT-CASTRO, M; LÓPEZ-VIRGEN, A. G; OCHOA-LEYVA, A; CONTRERAS-VERGARA, C. A; SORTILLÓN-SORTILLÓN, A. P; MARTÍNEZ-TÉLLEZ, M. A; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A; CASAS-FLORES, J. S; SAÑUDO-BARAJAS, A; KUHN, D. N; ISLAS-OSUNA, M. A. Genome-Wide Identification of Mango (*Mangifera indica* L.) Polygalacturonases: Expression Analysis of Family Members and Total Enzyme Activity During Fruit Ripening. **Frontiers Plant Science**, v. 10, p. 969, 2019.

DILLON, N; INNES, D; BALLY, I; WRIGHT, C; DEVITT, L; DIETZGEN, R. Expressed Sequence Tag-Simple Sequence Repeat (EST-SSR) Marker Resources for Diversity Analysis of Mango (*Mangifera indica* L.). **Diversity**, v. 6, n. 1, p. 72–87, 2014.

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

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT Food and Agriculture data. FAO, Rome, 2021.

GALÁN SAÚCO, V. Trends in world mango production and marketing. **Acta Horticulture**, v. 1183, p. 351-364, 2017.

HARPER, A. L; MCKINNEY, L. V; NIELSEN, L. R; HAVLICKOVA, L; LI, Y; TRICK, M; FRASER, F; WANG, L; FELLGETT, A; SOLLARS, E. S. A; JANACEK, S. H; ALLAN DOWNIE, J; BUGGS, R. J. A; KJAER, E. D; BANCROFT, I. Molecular markers for tolerance of European ash (*Fraxinus excelsior*) to dieback disease identified using Associative Transcriptomics. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1-7, 2016.

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.

KUHN, D. V.; BALLY, I. S. E.; DILLON, N. L.; INNES, D.; GROH, A. M.; RAHAMAN, J.; OPHIR, R.; COHEN, Y.; SHERMAN, A. Genetic Map of Mango: A Tool for Mango Breeding. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 577, 2017

KUHN, D. N; DILLON, N; INNES, D; WU, L. S; MOCKAITIS, K. Development of single nucleotide polymorphism (SNP) markers from the mango (*Mangifera indica*) transcriptome for mapping and estimation of genetic diversity. **Acta Horticulturae**, v. 1111, p. 315–322, 2016.

MASIBO, M; HE, Q. (2009) Mango Bioactive Compounds and Related Nutraceutical Properties—A Review. **Food Reviews International**, v. 25, p. 346–370, 2009.

MUKHERJEE, S. K.; LITZ, R. E. Introduction: botany and importance. In: LITZ, R. E. (2^aEd.). **The Mango: botany production and uses**. Wallingford: UK, CAB I. p. 1–18, 2009.

NAGEL, J. H; CRUYWAGEN, E. M; MACHUA, J; WINGFIELD, M. J; SLIPPERS, B. Highly transferable microsatellite markers for the genera *Lasiodiplodia* and *Neofusicoccum*. **Fungal Ecology**, v. 44, p. 100903, 2020.

PURCELL, S; NEALE, B; TODD-BROWN, K; THOMAS, L; FERREIRA, M. A; BENDER, D; MALLER, J; SKLAR, P; BAKKER, P. I. D; DALY, M. J et al. PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. **The American Journal of Human Genetics**, v. 81, p. 559–575, 2007.

RAVISHANKA, K. V; MANI, B. H. R; ANAND, L; DINESH, M. R. Development of new microsatellite markers from Mango (*Mangifera indica*) and cross-species amplification. **American Journal Botany**, v. 98, n. 4 p. 96-99, 2011.

RESENDE, R. T; RESENDE, M. D. V. D; AZEVEDO, C. F; SILVA, F. F. E; MELO, L. C; PEREIRA, H. S; SOUZA, T. L. P. O; VALDISSER, P. A. M. R; BRONDANI, C; VIANELLO, R. P. Genome-Wide Association and Regional Heritability Mapping of Plant Architecture, Lodging and Productivity in *Phaseolus vulgaris*. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, Bethesda, v. 8, n. 8, p, 2841-2854, 2018.

SHEN, F; HUANG, Z; ZHANG, B; WANG, Y; ZHANG, X; WU, T; XU, X; ZHANG, X; HAN, Z. Mapping gene markers for apple fruit ring rot disease resistance using a multi-omics approach. **G3: Genes Genomes Genetics**, v. 9, n. 5, p.1663–1678, 2019.

RIBEIRO, I. D. S; NETO, F. L; SANTOS, C, A, F. Allelic database and accession divergence of a Brazilian mango collection based on microsatellite markers. **Genetics Molecular Research**, v. 11, p. 4564–4574, 2012.

SCHNELL, R. J; OLANO, C. T; QUINTANILLA, W. E; MEEROW, A. W. Isolation and characterization of 15 microsatellite loci from mango (*Mangifera indica* L.) and cross-species amplification in closely related taxa. **Molecular Ecology Notes**, v. 5, n. 3, p. 625–627, 2005.

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**, n. 15, p. 383–393, 2005.

WANG, P; LUO, Y; HUANG, J; GAO, S; ZHU, G; DANG, Z; GAI, J; YANG, M; ZHU, M; ZHANG, H. The genome evolution and domestication of tropical fruit mango. **Genome Biology**. v. 21, 60p, 2020.

ZUIDERVEEN, G.H; PADDER, B.A; KAMFWA, K; SONG, Q; KELLY, J. D. Genome-Wide Association Study of Anthracnose Resistance in Andean Beans (*Phaseolus vulgaris*). **PLoS One**, v. 11, n. 6, p. e0156391, 2016.