

**ASPECTOS MORFOANATÔMICOS E GENÉTICOS EM RELAÇÃO À
GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE MAMÃO**

SÔNIA APARECIDA DOS SANTOS

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE

DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES / RJ

ABRIL – 2009

**ASPECTOS MORFOANATÔMICOS E GENÉTICOS EM RELAÇÃO À
GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE MAMÃO**

SÔNIA APARECIDA DOS SANTOS

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
Título de Doutora em Genética e Melhoramento
de Plantas.”

Orientador: Prof. Roberto Ferreira da Silva

**CAMPOS DOS GOYTACAZES, RJ
ABRIL – 2009**

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCTA / UENF 075/2009

Santos, Sônia Aparecida dos

Aspectos morfoanatômicos e genéticos em relação à germinação de sementes de mamão / Sônia Aparecida dos Santos. – 2009.

88 f. : il.

Orientador: Roberto Ferreira da Silva

Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Inclui bibliografia

1. Análise genômico 2.Semente 3. Mamão 4. Dialelos 5. Germinação 6. Estrutura semente microscopia-varredura I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD – 634.65121

**ASPECTOS MORFOANATÔMICOS E GENÉTICOS EM RELAÇÃO À
GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE MAMÃO**

SÔNIA APARECIDA DOS SANTOS

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas.”

Aprovada em 17 de Abril 2009

Comissão Examinadora:

Prof. Jose da Cruz Machado (Ph. D., Plant/ Seed Pathology) – UFLA

Prof. Eduardo Alves (D.Sc., Fitopatologia) – UFLA

Prof. Messias Gonzaga Pereira (Ph. D., Plant Breeding) – UENF

Prof . Roberto Ferreira da Silva (Ph. D., Horticulture) – UENF
(Orientador)

À minha mãezinha Vera Lúcia Ribeiro dos Santos, por ter partido aos 21 anos de idade desse Mundo, mas me deu a Vida! À minha avó Vicentina Batista Ribeiro, a querida amada e extremosa mãe que me educou. Ao meu avô Geraldo Ribeiro pelo amor a mim dedicado, e também por participar como um pai afetuoso da minha educação. À minha querida irmã Vera Aparecida Silva Couto, pela sua presença sempre tão doce e amiga. Minha eterna saudade...

IN MEMORIAN

Á minha alma gêmea meu nobre e único amor: meu esposo Vicente Martins Gomes, incansável e constante companheiro, de todas as horas e de todos os dias e que sem o sublime sentimento que nos une, esse trabalho não teria sido concluído. Ao grande exemplo de amor à vida e ao próximo, de luta persistente e constante nos seus objetivos, principalmente os morais, que nunca vi deixar se abater e na qual minhas palavras não são suficientemente justas para definir seu significado em minha vida, pois é o meu porto seguro, meu pai; Maurício Cândido dos Santos. A Maria de Lourdes Santos por ser a esposa, a eleita do coração do meu pai, para ser sua companheira amiga e fiel nessa jornada pela Terra, auxiliando-o a manter a ordem do lar, de forma incansável e alegre. À minha Irmã Ana Daniela dos Santos, sempre prestativa, atenciosa, dedicada em tudo o que fez e faz por mim. À minha irmã caçula Caroline dos Santos por me ajudar a ser uma pessoa melhor. E ao meu amado sobrinho Augusto César,

OFEREÇO!

A você que está acima de tudo no altar do meu coração, a quem sou capaz de dar minha própria vida; meu amado filho Stefan Ribeiro dos Santos. São 17 anos que você veio ao mundo pra me ensinar o verdadeiro sentido da palavra amar. Muito obrigada por ter me dado a honra de ser sua mãe! Conseguimos filho! Por isso a você com todo meu amor, amor além do infinito...

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

A Deus nosso Pai Celestial, ao Mestre dos Mestres, nosso irmão maior Jesus Cristo e nossa mãe Maria de Nazaré, pela presença constante em minha vida, sempre me auxiliando nos momentos de dores físicas e morais. À doutrina consoladora de Allan Kardec “O Espiritismo” sem a qual eu não entenderia o significado das sublimes mensagens deixadas por Jesus Cristo, principalmente do perdão e amor ao próximo;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela oportunidade concedida para a realização desse Curso, e a FAPERJ, EPAMIG, CALIMAN pelos suportes técnico e financeiro;

Ao Laboratório de Tecnologia de Sementes (LFIT/UENF), pelo suporte para a realização dos trabalhos;

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-estrutural (LME) Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras-UFLA pela oportunidade concedida para as avaliações realizadas nesse trabalho;

Ao meu orientador Prof. Ph. D. Roberto Ferreira da Silva, pela amizade, carinho e orientação prestimosa e segura na realização dos experimentos, disponibilizando-se sempre e incondicionalmente no interesse de resolver os problemas enfrentados nesse trabalho;

Ao meu conselheiro Prof. Ph. D. Messias Gonzaga Pereira, pela amizade, incentivo, conselhos valiosos e seguros, e pela disponibilidade sem cortes e gentil

em me atender, ajudando a resolver os problemas enfrentados ao longo desse trabalho;

Ao meu conselheiro Prof. Alexandre Pio-Vianna, pela amizade, presença constante e gentil, disponibilizando-se sempre com o interesse de nos ajudar a resolver os problemas enfrentados no decorrer desse trabalho;

À Coordenadora do Curso de Pós-graduação Prof.^a Ph. D., Telma Nair Santana Pereira, pela amizade, carinho, pela constante boa vontade em nos atender, e sobretudo na confiança em mim depositada;

Ao Prof. D.Sc. Flávio Meira Borém, pela amizade, carinho, sempre com uma palavra de estímulo nos momentos mais difíceis desse trabalho, por ser o responsável pela formação da equipe que conta com a presença dos professores da UFLA e da UENF, pois sem a formação dessa equipe eu não teria alcançado nossos objetivos;

À secretária de Pós-graduação da Engenharia Agrícola/UFLA, à Administradora Ana Daniela dos Santos pelos prestimosos serviços prestados sempre com dedicação e esmero, ajudando a consolidar a formação da equipe desse trabalho;

Ao meu querido professor Prof. Ph. D., José da Cruz Machado, pela nobre e sublime amizade conquistada ao longo de muitos anos. Por sua inquestionável competência profissional, mas, sobretudo pela nobreza de caráter, estendendo sempre sua mão generosa, com seus sábios conselhos, com presença segura e ao mesmo tempo serena em todos os momentos, não apenas nesse trabalho, mas também desde a graduação;

À minha querida amiga pesquisadora da Syngenta PhD. Cibele Ferreira Machado, pela amizade a mim dedicada, por sua generosidade, compromisso com nosso trabalho, sempre presente de forma incondicional com a intenção de resolver os problemas surgidos durante a realização desse trabalho;

Ao Prof. D.Sc. Eduardo Alves pela sua amizade, carinho, pela sua presença segura e constante, a nos ajudar a resolver os problemas enfrentados no decorrer desse trabalho;

A todos os demais professores da nossa equipe de trabalho: Renato Guimarães Mendes (UFLA) Antônia Elenir Amâncio de Oliveira (CBB/UENF), bem como a colaboração extremosa da técnica Eloísa (LME/UFLA) sempre organizadíssima, pelos conhecimentos que pude adquirir com vocês, bem como pela amizade e carinho;

Ao técnico do laboratório de Tecnologia de Sementes, (LIFIT/UENF) Antônio Carlos Braga, pelos conhecimentos passados, pela presença sempre alegre e por sua amizade;

A Luciana, Fatinha e Patrícia, secretárias da Pós-graduação da Produção Vegetal por terem me acolhido com tanto amor desde que cheguei à UENF. Ao Daniel secretario da Pós-graduação da Genética e Melhoramento de Plantas por todos os serviços prestados;

A Genilse pela sua presença sempre amiga, alegre, forte, me estimulando a não desistir, e ao Cuca seu esposo e meu primo que me acolheram em sua casa, quando aqui cheguei, e também pelo carinho de seus filhos, Douglas e Jéferson;

A todos os amigos adquiridos nesse período de quatro anos em Campos dos Goytacazes, cuja base desse sentimento sólido, levarei para onde for, e àqueles que de forma direta ou indireta colaboraram para a conclusão desse trabalho, o meu...

MUITO OBRIGADA!

“O homem não deve procurar elevar-se acima do homem, aparentando uma superioridade material que é ilusionária e passageira, mas deve sim elevar-se acima de si mesmo, do seu orgulho e prepotência, pois somente as qualidades morais são eternas, o resto é efêmero.”

ALLAN KARDEC

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	X
ABSTRACT.....	XIV
1 Introdução.....	1
2 Revisão de literatura.....	5
2.1 Mamoeiro(<i>Carica papaya</i> L.).....	5
2.1.1 Aspectos gerais da espécie <i>Carica papaya</i> L. e dos grupos “Solo” e Formosa”	5
2.1.2 Grupo “Solo”	6
2.1.3. Grupo “Formosa”	9
2.2 Aspectos anatômicos (ultra - estruturais das sementes).....	11
2.3 Aplicações da técnica dos raios X em estudos de sementes.....	12
2.4 Melhoramento e germoplasma do mamoeiro.....	14
2.5 Dialelo	16
2.6 Parâmetros genéticos método de Griffing.....	19
3 Trabalhos	20

3.1 Estudos morfo anatômicos de sementes de dois genótipos de mamão (<i>Carica Papaya</i> L).....	20
3.1.1 Resumo.....	20
3.1.2 Abstract.....	22
3.1.3 Introdução.....	22
3.1.4 Material e Métodos.....	24
3.1.5 Resultados e Discussão.....	25
3.1.6 Conclusões.....	32
3.1.7 Referências Bibliográficas.....	33
3.2 Potencialidade da técnica de raios-x para avaliação da qualidade de sementes de mamoeiro	35
3.2.1 Resumo.....	35
3.2.2 Abstract.....	36
3.2.3 Introdução.....	37
3.2.4 Material e Métodos.....	39
3.2.5 Resultados e Discussão.....	40
3.2.6 Conclusões.....	45
3.2.7 Referências Bibliográficas.....	46
3.3 Germinação de sementes de mamoeiro: investigação preliminar do efeito de diferentes componentes anatômicos	50
3.3.1 Resumo.....	50
3.3.2 Abstract.....	51
3.3.3 Introdução.....	51
3.3.4 Material e Métodos.....	53
3.3.5 Resultados e Discussão.....	54
3.3.6 Conclusões.....	59
3.3.7 Referências Bibliográficas.....	59
3.4 Viabilidade de cruzamentos dialélicos e determinação da capacidade combinatória de 4 genótipos de mamoeiro em relação a germinação das sementes.....	63
3.4.1 Resumo.....	63

3.4.2 Abstract.....	64
3.4.3 Introdução.....	65
3.4.4 Material e Métodos.....	67
3.4.5 Resultados e Discussão.....	68
3.4.6 Conclusões.....	74
3.4.7 Referências Bibliográficas.....	75
4. Resumo e Conclusões.....	77
5. Referências bibliográficas.....	80

RESUMO

SANTOS, S.A. dos, Eng^a Agrônoma, D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Abril de 2009. Aspectos morfo anatômicos e genéticos em relação à germinação de sementes de mamão. Orientador: Prof. Roberto Ferreira da Silva. Conselheiros: Profs. Messias Gonzaga Pereira e Alexandre Pio - Vianna

Diversos trabalhos sobre caracteres agronômicos de importância econômica têm sido conduzidos dentro dos programas de pesquisa em melhoramento genético do mamoeiro para obtenção de frutos de melhor qualidade. A caracterização de alguns atributos como resistência a doenças, tamanho, peso e tipo de frutos, altura da planta, dentre outros, têm sido amplamente estudados, entretanto, são escassos os estudos sobre as estruturas da semente do mamoeiro, seus aspectos morfológicos e anatômicos e sua capacidade de germinação. A problemática germinação das sementes do mamoeiro tem conduzindo a formação de pomares com falhas. Assim, investigações detalhadas sobre esses aspectos referentes as sementes podem gerar informações relevantes que auxiliarão a obtenção de genótipos promissores de mamoeiro. Foram realizados, portanto, quatro trabalhos. No primeiro, foram estudados os aspectos morfológicos e anatômicos das estruturas que constituem as sementes do mamoeiro. Os genótipos; *Sunrise Solo 783* e *Formosa Roxo 45*, pertencentes aos grupos "Solo" e "Formosa", respectivamente, foram avaliados. A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-estrutural (LME) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), MG. Os estudos morfológicos foram realizados em sementes

dissecadas e cortadas longitudinalmente utilizando bisturi, pinça e sexploradora sob microscópio estereoscópico. As imagens obtidas foram registradas no próprio aparelho, selecionando as melhores para a investigação. As características anatômicas foram realizadas com o auxílio da microscopia eletrônica e varredura. As amostras foram preparadas de acordo com a metodologia de rotina do LME e observadas a alto vácuo em diversos aumentos no microscópio Leo Evo 40, à distância de trabalho de 10 mm. As medições foram realizadas usando-se o Software Leo User Interface (versão Leo 3.2). Os estudos morfológicos permitiram identificar as estruturas que compõem a semente do mamoeiro e os estudos anatômicos permitiram observar a existência de diferenças estruturais e dimensionais entre as células dos dois genótipos estudados. O segundo trabalho foi proposto com o intuito de verificar a possibilidade de uso da técnica de raios-X para avaliar a qualidade de sementes de mamoeiro e estabelecer um procedimento para condução do teste em sementes dessa espécie. A investigação foi conduzida com as sementes do híbrido UENF/CALIMAN 01 no estágio 5 de maturação. As sementes foram submetidas aos ensaios radiográficos e classificadas com base no perfil morfológico dos tecidos embrionários e endospermático verificado na radiografia. Em seguida, foi conduzido o teste de germinação das sementes visando analisar possíveis correspondências entre a anatomia das sementes e as respectivas plântulas/sementes resultantes. A exposição das sementes do mamoeiro à radiação a 20kV por 1,5 minutos gerou imagens radiográficas mais nítidas das estruturas internas possibilitando a discriminação de classes anatômicas das sementes possivelmente associadas à germinação (semente cheia, semente vazia, semente com proporção embrião/cavidade embrionária aparentemente reduzida, semente com endosperma presente e embrião não visível radiograficamente). Verificou-se como resultado desse estudo que a aplicação da técnica dos raios-x, é especialmente promissora na análise da qualidade das sementes do mamoeiro cuja germinação normalmente se processa num período reativamente longo, e por manter a integridade das mesmas. Além disso, os resultados desse estudo permitiram evidenciar a potencialidade da técnica dos raios-x para estudos do potencial de germinação da semente do mamoeiro, pois se verificou uma relação entre as informações fornecidas pelo exame radiográfico das suas estruturas e a sua germinação. O terceiro trabalho estudou as estruturas do mamoeiro e sua ação na

germinação. Foi constatado que quando a semente está intacta, com todas as suas estruturas, a germinação ocorreu normalmente. Já ao se retirar o tegumento, mesmo mantendo o endosperma com o eixo embrionário, não ocorreu germinação, embora o eixo embrionário, em conjunto com os cotilédones, apresentou germinação semelhante a da semente intacta, não havendo diferença significativa entre ambas, pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$). Pode-se supor que, na ausência do tegumento, a germinação das sementes não ocorreu porque, ao se remover essa estrutura, a camada de aleurona que recobre o endosperma e possui enzimas hidrolíticas responsáveis pelo amolecimento do endosperma, pode ter sido danificada ou mesmo retirada. O quarto trabalho foi realizado para avaliar a capacidade geral de combinação (CGC) e a capacidade específica de combinação (CEC) de genótipos de mamoeiro em relação ao caráter germinação das sementes. Foi utilizado um dialelo 4x4, envolvendo os genótipos 72/12, Golden, JS12 e Maradol, provenientes do Banco de Germoplasma da UENF. As análises dialélicas foram conduzidas na Estação Experimental da Caliman, em Linhares ES, enquanto a análise de germinação foi conduzida na UENF, em casa de vegetação, utilizando-se delineamento em blocos casualizados (DBC) com quatro repetições e 20 sementes por tratamento. Dos 16 híbridos possíveis, apenas 13 foram obtidos e avaliados, devido ao surgimento de oídio. Os valores das estimativas para CGC e CEC foram significativos, indicando a presença de genes de efeito aditivo e de ação gênica de dominância. Os efeitos recíprocos e maternos também foram significativos e indicaram que, além de genes nucleares, existem também genes extra-nucleares controlando a germinação das sementes do mamoeiro. A germinação oriunda dos cruzamentos 72/12 x JS12 e 72/12 x Maradol foi muito baixa, ao passo que o recíproco de 72/12 x JS12 apresentou a maior porcentagem de germinação dentre todos os cruzamentos. Para o recíproco de 72/12 x Maradol, a germinação foi baixa, mas não tanto quanto a que utilizou o 72/12 como genitor feminino. Os genótipos 72/12 e Golden apresentaram, em ordem decrescente, as maiores magnitudes de efeitos de CGC, sendo o 1º negativo, e o 2º, positivo. Ambos podem ser indicados para programas de melhoramento intrapopulacional. Além disso, o genótipo Golden também teve bom desempenho em cruzamentos específicos, em função da complementação gênica entre os parentais, o que pôde ser verificado pelos valores de CEC para os híbridos oriundos de Golden x JS12 e Golden x Maradol. O genótipo JS12, além

de boa CGC, foi superior aos demais quanto a CEC, tendo combinado bem com todos os genótipos desse dialelo, originando híbridos com porcentagem de germinação superior a 80%, principalmente quando utilizado como progenitor feminino.

ABSTRACT

SANTOS, Sônia Aparecida dos, D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; April, 2009. Seeds of *Carica papaya* L: a survey about morphology, anatomy and genetic effects with regard to the germination process. Adviser: Roberto Ferreira da Silva; Committee Members: Messias Gonzaga Pereira and Alexandre Pio-Vianna.

Many researches about agronomic traits of economic importance have been carried out in papaya breeding programs, in order to obtain better quality fruits. Other characteristics as disease resistance, fruit weight, fruit size and plant height have been widely studied, however, there is only a few researches about papaya seed structures, their morph-anatomical aspects and seed germination. The problematic germination of papaya seeds has generated failed orchards. Thus, an investigation of these seed aspects can provide additional information that could help the obtention of papaya superior genotypes. Four works were developed. In the first one, morphological and anatomical aspects of papaya seeds structures were examined. The genotypes Sunrise *Solo 783* and *Formosa Roxo 45*, representing 'Solo' and 'Formosa' groups, respectively, were evaluated. The research was conducted in the Electron Microscopy Lab of Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais State. Seeds were longitudinally cut by hands using scalpel, tweezers and sexploradora and were observed under stereoscopic microscope to morphological evaluation. Some images were obtained and the best ones were selected to investigation. The anatomic characteristics were analyzed in the scanning electron microscope. Samples were prepared

according to the routine protocol developed from UFLA Electron Microscopy Lab and were observed in the Leo Evo 40 microscope, in high vacuum and several magnifications, using the work distance of 10 mm. The measurements were obtained using the Leo User Interface Software (Leo 3.2 version). The morphological studies allowed to identify the structures of papaya seeds while the anatomic studies allowed to observe structural and dimensional differences between the genotypes. The second work was developed with the aim to verify the application of X-ray method to evaluate the quality of papaya seeds and to establish a protocol to analyze them. Seeds of UENF/CALIMAN 01 hybrid at stage 5 of maturation were exposed to X-ray assays and classified according to their morphological profiles of embryonic and endospermic tissues as revealed by the radiography. After that, these seeds were submitted to the germination test to detect possible associations between seed anatomy and its corresponding seedling/non-germinated seed. Seeds were exposed to a radiation of 20 kV for 1.5 minutes. This procedure produced clear radiographic images of the internal seed morphology. It was possible to discriminate four anatomic classes that are possibly related to the germination (full seed, empty seed, seed with reduced embryo/embryo cavity proportion and seed with endosperm and non-visible embryo). It was verified that the X-ray test shows potential to analyze the quality of papaya seeds which germination occurs in a relative long period of time. Furthermore it is a non-destructive method that maintains the seeds integrity. The results of this work showed an association between the morphological information provided by the X-ray test and the standard germination test, indicating its potential to be applied in papaya seeds. The third work consisted in a study about papaya seed structures and their action with regard to the seed germination. It was verified that when the seed is intact, with all structures, the germination was normal. On the other hand, when the tegument was removed but the endosperm and the embryonic axis were maintained, the germination did not occur although the presence of both the embryonic axis and the cotyledons allowed a normal germination like in intact seeds, with no significant difference between them by the Tukey test ($P \leq 0.05$). It was possible to suppose that the aleurone layer might be damaged and/or partially removed during the tegument excision, compromising the hydrolase production that promotes the endosperm cell wall weakening during the germination process. The aim of the fourth work was to evaluate the general

combining ability (GCA) and specific combining ability (SCA) of four papaya genotypes in relation to the seed germination. The F₁ hybrids were generated by a complete diallel analysis among four papaya genotypes: 72/12, Golden, JS12 and Maradol, from UENF germplasm collection. The diallel analyses were carried out at Caliman Experimental Station, Linhares, Espírito Santo state. The germination assays were conducted in randomized complete block design with four replications and 20 seeds per treatment, at UENF. From the 16 possible hybrids, only 13 were evaluated due to the powdery mildew. The GCA and SCA estimates were both significant, indicating the presence of additive and non-additive genetic effects. Reciprocal and maternal effects were significant as well, suggesting that extra-nuclear genes also control papaya seeds germination. The germination rate from 72/12 x JS12 was very low. However, their reciprocal cross showed the highest germination rate among all attempted crosses. The cross 72/12 x Maradol also had low germination, but not too low as when 72/12 was used as female parent. The highest GCA magnitudes were presented by 72/12 and Golden, although the first one was negative and the second one, positive. Considering these magnitudes, both of them can be recommended to be used in intrapopulation breeding programs. In addition, the Golden genotype has a good behavior in crosses, which was verified by the SCA values from the hybrids between Golden and JS12 and between Golden and Maradol. The JS12 genotype showed a good GCA and the highest SCA values when compared to the other lines analyzed. Its hybrids presented germination levels over 80%, mainly when it was used as female parent.

1 INTRODUÇÃO

Sob o ponto de vista tecnológico, a semente é o meio mais eficiente para a transferência dos avanços da genética para o campo, interligando a pesquisa e o produtor. Conseqüentemente o dinamismo da pesquisa com sementes é irreversível e sempre permite antever progressos significativos a curto e médio prazo, como símbolo da diversidade. É notória a evolução da tecnologia da produção agrícola como conseqüência da interligação dos resultados obtidos com pesquisas em áreas diferentes. Entretanto, mesmo diante desse quadro progressista ainda são incipientes as pesquisas em áreas diferentes enfocando o mesmo objetivo para a semente do mamoeiro (*Carica papaya* L), principalmente com relação à germinação, na qual a mesma apresenta problemas sérios, e ainda não elucidados.

A germinação das sementes é um complexo processo bioquímico e fisiológico que inicia a partir da embebição das sementes, após todos os possíveis mecanismos da dormência ter sido quebrados. Assim, em condições favoráveis o rápido crescimento e expansão do embrião culminam com a ruptura do tegumento e a emergência da radícula. Todo esse processo metabólico que culmina com a protrusão da radícula determina o final da germinação.

Entretanto, para a tecnologia de sementes, a germinação é definida por um conceito de cunho mais agrônomico, comercial, pois se leva em consideração que a mesma, não termina com a protrusão da radícula, incluindo também a emergência das estruturas do embrião, a sua capacidade de gerar plântulas, e a

aptidão destas em produzir plantas normais nas condições de campo (Machado, 2002).

Um dos entraves da germinação é a sua desuniformidade e lentidão. Até o presente momento, os estudos cujo foco seja investigar a lenta e esporádica germinação, basicamente se referem às substâncias químicas presentes no envelope mucilaginoso que envolve o tegumento, a exotesta, e também estudos que enfatizam diferentes técnicas de quebra da dormência. Entretanto, os resultados obtidos são conflitantes e não elucidaram o problema. Atualmente, são constatadas na literatura, pesquisas conduzidas com as demais estruturas da semente, além do tegumento, como o endosperma, os cotilédones com o eixo embrionário, assim como ação coordenada dessas estruturas na germinação (Brooks & Michell, 1988; Debeaujon et al., 2000; Wu et al., 2000; Petruzzelli et al., 2003; Muller et al., 2006; Penfield et al., 2006; Santos et al., 2009; Pascual, et al 2009; Sreenivasulu, et al, 2009).

Outro aspecto relevante que não tem sido considerado é a caracterização das sementes do mamoeiro existentes no Banco de Germoplasma. De acordo com Hallauer e Miranda Filho (1981), a escolha do germoplasma é o ponto básico para iniciar qualquer programa de melhoramento, sendo responsável pela obtenção do sucesso do mesmo, visto que as características do germoplasma determinarão o quanto do seu potencial máximo poderá ser alcançado. São incipientes os trabalhos que caracterizam e documentam os aspectos morfo anatômicos das estruturas das sementes do mamão, dos genótipos contidos nos Bancos de Germoplasma, salvo trabalhos realizados por Foster (1943) Santo et al, 2009).

A microscopia eletrônica de varredura tem demonstrado ser uma excelente ferramenta para avaliar e caracterizar as diferentes estruturas de sementes das diversas espécies de angiospermas cujas pesquisas são inexistentes para a semente do mamoeiro. Os resultados obtidos dessa pesquisa podem ser utilizados para um melhor entendimento da semente, e documentar que esse germoplasma é importante para ser utilizado como recurso genético em programas de melhoramento de plantas. Considerando que as qualidades fisiológica, física, sanitária e genética, também refletem o potencial de germinar das sementes, várias técnicas têm sido utilizadas para permitir a avaliação e caracterização do germoplasma com relação à sua germinação e vigor. Dessa

forma, a técnica dos raios-X baseia-se na análise radiográfica das estruturas internas da semente para a detecção de danos ou anormalidades prejudiciais à germinação. Sua utilização tem relevância na análise da qualidade da semente, pois as mesmas não requerem tratamento prévio e a baixa dose de radiação absorvida por elas durante o teste não causa mutações genéticas, não afeta a germinação, conferindo além dessas vantagens o fato de ser um método rápido, preciso, de fácil execução e que mantém a integridade das sementes. (Bino et al., 1993). A inclusão do teste de raios-X nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992; ISTA, 1993) tem como objetivo básico a complementação das informações fornecidas pelo teste de germinação; nesse caso, sementes da amostra destinada ao teste de germinação são previamente radiografadas e classificadas de acordo com o perfil anatômico visualizado. É imprescindível que se detenha informações sobre a eficiência dos diferentes testes de germinação, pois os resultados permitirão a escolha ou as escolhas dos testes que serão utilizados na rotina da avaliação da qualidade das sementes e a técnica dos raios-X para auxiliar na avaliação da qualidade da germinação das sementes do mamoeiro não é encontrada na literatura. E para as sementes do mamoeiro essa técnica possui um cunho de muita relevância, face ao fato da germinação das mesmas ser muito lenta. A sua viabilidade em germinar, pode em poucos minutos ser constatada com a utilização da técnica de raios-X, que identifica a presença de danos, assim como, a ausência de alguma das estruturas internas, que poderão vir a impedir o processo germinativo. Por sua vez, a germinação é controlada por vários genes, portanto uma característica quantitativa, cujas pesquisas dentro desse contexto, aliadas aos estudos percorridos para a germinação das sementes, carece de estudos sobre os genótipos, sua capacidade combinatória para produção de híbridos, assim como os componentes genéticos da sua germinação.

Para a seleção de genitores e no entendimento dos efeitos genéticos envolvidos na determinação dos caracteres os cruzamentos dialélicos se destacam, provendo estimativas de parâmetros úteis na seleção de genitores para hibridação (Cruz & Regazzi, 1994). O dialelo tem sido uma ferramenta muito importante para atender os propósitos básicos do melhoramento, em inúmeras características de importância agrônômica, para muitas culturas, inclusive para o mamoeiro, exceto pesquisas para a característica germinação.

Quando é realizado o dialelo, o melhorista está interessado em dar continuidade ao seu trabalho de identificar o par ou pares de combinações híbridas com potencial de permitir identificar linhagens promissoras (Ramalho et al., 1993). Para isso, é necessário obter informações sobre a capacidade específica de combinação (CEC), da mesma forma, as estimativas da capacidade geral de combinação (CGC) são úteis para direcionar os futuros trabalhos de hibridação, ou seja, genitores com alta CGC devem dar boas combinações híbridas em cruzamentos com os demais genitores (Vencovsky, 1978).

Dessa forma, o dialelo permite verificar também em qual direção dos cruzamentos entre os progenitores envolvidos, os que deixarão descendentes superiores, visto que o mamoeiro comercial é o hermafrodita, que ora pode se comportar como fêmea ora como macho. As sementes mais utilizadas no Brasil para o plantio comercial são: Golden, seguido pelo Tainung 01, pertencente ao grupo “Formosa” e o Calimosa oriundo do cruzamento realizado entre uma linhagem do grupo “Solo” com uma linhagem do grupo “Formosa”, desenvolvido pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro em parceria com a Empresa Caliman. As sementes híbridas importadas têm um custo em torno de US \$2.500 o quilo. Este preço muito elevado aliado à dificuldade de aquisição de sementes de procedência idônea têm levado muitos fruticultores a utilizar plantios sucessivos com as gerações F_2 , F_3 e F_4 do híbrido ‘Tainung 01’, acarretando, com isso, inúmeros problemas, sobretudo com a perda de vigor e segregação do formato do fruto (Marin et al., 2005).

Objetivos: Mediante ao exposto, esse trabalho apresenta como objetivo específico: estudar a germinação da semente de mamoeiro pesquisando as estruturas que a constitui, a influencia das mesmas no processo germinativo, e pesquisar a viabilidade de cruzamentos dialélicos em potencializar esse caractere nos híbridos. **Objetivos Gerais:** caracterizar as estruturas que compõem a semente do mamoeiro, por meio de estudos anatômicos e morfológicos, para ampliar os conhecimentos a cerca do referido germoplasma; pesquisar a influência das estruturas, e a sua ação coordenada no processo germinativo e por fim, pesquisar a viabilidade do uso do dialelo para desenvolver novos híbridos com porcentagem superior de germinação por meio de estudos dos seus parâmetros genéticos assim como dos genitores envolvidos no cruzamento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Mamoeiro:

2.1.1 Aspectos gerais da espécie *Carica papaya* L. e dos grupos “Solo” e “Formosa”

O mamoeiro cultivado comercialmente (*Carica papaya* L.) pertence à família Caricaceae, que possui seis gêneros e 35 espécies (Van Droogenbroeck et al., 2002). Os gêneros *Carica* (uma espécie), *Horovitzia* (uma espécie), *Jacaratia* (sete espécies), *Jarilla* (três espécies) e *Vasconcellea* (21 espécies) são originários do continente americano, enquanto o gênero *Cylicomorpha* (duas espécies) pertence ao continente africano (Van Droogenbroeck et al., 2004). Sendo que segundo Badillo (2000), a família Caricaceae possui as características científicas que a enquadra dentro da classe Dicotyledoneae, subclasse Archichlamydeae, ordem Violales, subordem Caricinae.

Carica, entretanto, é um gênero que possui cerca de 20-25 espécies de árvores e arbustos sem ramos, nativas da América Central e da América do Sul. Todos os frutos destas espécies são comestíveis, sendo muito cultivados, pelo menos nos seus países de origem. As espécies mais cultivadas com intuito comercial são a papaia (*Carica papaya*) com $2n=18$ cromossomos e o babaco (*Carica pentagona*). <http://pt.wikipedia.org/wiki/Carica>, página atualizada em 12/06/2009). Os frutos do mamoeiro podem ser consumidos *in natura*, em saladas e sucos. Antes da maturação, sua casca apresenta um látex leitoso que deve ser retirado antes do consumo. Este látex contém substâncias nocivas às

mucosas, sendo usado, inclusive, culinariamente, como amaciante de carnes. Tem um alto teor de papaína, uma enzima proteolítica, que é usada em medicamentos para tratamento de distúrbios gastrointestinais e para reabsorção de hematomas.

A planta é considerada herbácea com altura entre 2 e 10 m, podendo viver até os 20 anos, contendo um sistema radicular superficial com raízes brancas e pouco abundantes. O caule geralmente é único, fibro esponjoso, verde a cinza-claro, fácil de quebrar e encimado por coroa de folhas terminal (em capitel). As folhas são grandes, alternas, lobadas com pecíolo longo (0,25-1 m.), oco e frágil; Basicamente, o mamoeiro apresenta três tipos de flores, as quais levam a classificação de plantas como femininas, masculinas e hermafroditas. De maneira geral, as flores hermafroditas têm uma inflorescência relativamente curta com predominância de flores hermafroditas; as plantas femininas têm uma inflorescência curta, a qual apresenta somente flores femininas; enquanto as plantas masculinas são caracterizadas pelo maior comprimento do pedúnculo, com muitas flores cimosas, com ovário rudimentar e estéril. É constado que tanto as inflorescências quanto as flores do mamoeiro possuem uma grande diversidade nas suas formas (Storey, 1941; Badillo, 1993). Por sua vez o fruto é uma baga ovalada, cuja polpa é de uma cor laranja forte, doce e macia. Há uma cavidade central preenchida com sementes negras e rugosas, envolvidas pela exotesta, a casca é macia, amarela ou esverdeada.

Segundo Luna (1986), há poucas variedades de mamoeiro, pois considerando a propagação sexuada natural, a descendência obtida é portanto bastante variável. Assim sendo, o termo variedade é usado com muita cautela e restrição no mamoeiro, explicando portanto o fato de haver poucas variedades. Uma variedade bem definida do mamão, oriunda por meio de seleção e polinização controlada, é passível de perder suas características, em poucas gerações, caso não sejam mantidos lotes de semente pura (Luna, 1986). As variedades de mamoeiro agrupam-se em 2 grupos básicos: "Grupo Solo" conhecido como papaya, o "Grupo Formosa". De acordo com Nakazone (1988), é característica do grupo "Solo", um tipo de mamão de frutos pequenos que foi introduzido e melhorado pioneiramente no Havaí, recebendo este nome devido aos trabalhadores de Porto Rico da Estação Experimental de Agricultura do Havaí

que se referiam ao fruto como o pequeno que era suficiente para alimentar uma pessoa. O grupo “Solo” é constituído por variedades melhor trabalhadas geneticamente, sendo exploradas em várias regiões do mundo. Produzem frutos de polpa avermelhada, de tamanho pequeno, de 300 a 650 g, e por este motivo, preferido para exportação (Newton e Givanildo, 2004).

O grupo “Formosa” é constituído por alguns híbridos, razão pela qual se torna necessário a importação de novas sementes para o plantio de um novo pomar, elevando consideravelmente o custo. Os frutos são de tamanho médio, entre 1000 e 1300 g, com polpa avermelhada. Devido ao que já se foi descrito sobre o rigor da cautela em se utilizar o termo variedade para o mamão, nesse trabalho adotar-se-á a terminologia genótipo.

2.1.2 Grupo “Solo”

No Brasil o grupo “Solo” foi introduzido em 1977, pois anteriormente a essa data praticamente não se utilizava variedade comercial no Brasil, pois as sementes utilizadas no plantio, via de regra, eram segregantes (Ferreira & Giacometti, 1988).

‘Sunrise Solo’: procedente da Estação Experimental do Havaí (EUA), é uma seleção resultante do cruzamento do mamão ‘Pink Solo’ e da linhagem ‘Kariya Solo’, de polpa amarela, em 1961 (Luna, 1986 a). É considerada a melhor cultivar comercial conhecida até o momento por possuir características superiores, como coloração vermelho-alaranjada da polpa, herdadas pela variedade de tamanho pequeno dos frutos, pesando de 400 a 600 g, formato piriforme a ovalado, de cavidade interna estrelada, bom sabor, aparência de casca lisa e firme (Luna, 1986 a; Marin et al., 2000). Segundo Ruggiero (1982) e Marin et al., (1986), a polpa relativamente pouco consistente dos frutos desta variedade vem limitando a expansão desta variedade para mercados mais distantes, fato que tem despertado para a substituição por outras de polpa firme, como é o caso do ‘Golden’, que recentemente vem sendo muito cultivado no Brasil.

A planta apresenta altura de inserção das primeiras flores de 70 a 80 cm, conferindo porte baixo, com produção no nono mês após o plantio, com produtividade de 45 t/ha/ano. Não é recomendada para o mercado externo, mas de boa aceitação para o mercado interno, principalmente São Paulo, Rio de Janeiro e Belo Horizonte, pois seus frutos pequenos, com média 450 g e na maioria dos frutos variando entre 460 e 600 g, têm a preferência do consumidor (Ruggiero, 1982; Marin et al., 2000). Por se tratar de material com alto grau de homozigose, é extremamente suscetível ao mosaico e vem exigindo outras alternativas varietais (Giacometti & Ferreira, 1988).

'Improved Sunrise Solo line 72/12' : cultivar procedente do Havaí, introduzida e melhorada pela Empresa Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural (EMCAPER), atual Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural (INCAPER), conhecida comumente como mamão Havaí, amplamente disseminada nas regiões produtoras do Espírito Santo. Apresenta precocidade de produção, sendo que o fruto proveniente de flor feminina é ovalado e o de flor hermafrodita é periforme, com casca lisa, firme e peso médio de 500g, de grande aceitação nos mercados interno e externo (Marin et al., 1987). A cavidade ovariana é pequena e de formato estrelado; a polpa é espessa e de coloração vermelho-alaranjada, de boa qualidade, com boa resistência ao transporte e maior resistência ao armazenamento do que a 'Sunrise Solo'. O início de produção ocorre a partir de 9 meses após o plantio, com altura de inserção das primeiras flores, aos 60 a 70cm, e peso dos frutos de 450g (Fraife Filho et al., 2001). A produtividade é de 40 t/ha/ano nas lavouras localizadas no estado do Espírito Santo, onde as condições locais são aptas para o cultivo. É uma variedade precoce, com produção no oitavo mês após o plantio, de porte baixo com altura de inserção das primeiras flores a 60-70 cm do solo. Estas características foram melhoradas em relação ao 'Sunrise Solo', visando facilitar tratos culturais e adensamento, sem prejuízo da produtividade e da qualidade.

Desta forma, os frutos desta variedade além de boa aceitação para o mercado interno como ocorre com 'Sunrise Solo', almejam buscar o mercado externo mais exigente (Marin et al., 1986; Marin et al., 2000).

'Baixinho de Santa Amália': a origem desta variedade deu-se provavelmente por mutação somática da variedade 'Sunrise Solo', ocorrida em

1996 na Fazenda Santa Amália, município de Linhares-ES. Um fator importante desta variedade é o porte baixo das plantas, característica que a selecionou, com inserção das primeiras flores a 50-70 cm de altura.

Devido ao menor porte (2,77 m de altura) em relação à 'Sunrise Solo' (4,14 m) e 'Sunrise Solo 72/12' (4,17 m) aos 2 anos após o plantio, esta variedade possibilita a irrigação por aspersão sobrecopa (pivot central). Os frutos são maiores em relação às variedades citadas anteriormente, com média de 550 g, polpa vermelho-alaranjada, mas pouco consistente, característica que restringe a aceitação tanto no mercado interno quanto no externo (Marin et al., 1995; Marin et al., 2000).

'**Golden**': mutação da 'Sunrise Solo', foi selecionada pela empresa Caliman Agrícola S/A, no município de Linhares-ES. A característica mais marcante desta variedade é a coloração verde-clara das plantas, acentuadamente aclorofiladas. Este fato expõe uma importante limitação que é a baixa produtividade em relação às demais cultivares do grupo "Solo", provavelmente pela menor fotossíntese das plantas desta cultivar conferindo menor rusticidade em termos de exigências em tratos culturais (Marin et al., 2000). Embora a produtividade seja inferior, as características de qualidade de fruto são superiores, como casca lisa e coloração verde-clara e tolerante à "mancha fisiológica do mamoeiro" proporcionando melhor aceitação no mercado externo, permitindo assim um aumento de divisas ao país associado a uma melhor remuneração ao produtor (Marin et al., 2000).

2.1.3. Grupo "Formosa"

O plantio de mamoeiros do Grupo "Formosa" no Brasil ainda é dependente de importação de sementes da cultivar híbrida Tainung nº. 1 de Taiwan. Dessa forma a importação. O custo da importação aliado ao preço do quilo das sementes em torno de U\$2.500,00 estimulou os pesquisadores brasileiros a produzir o primeiro híbrido do Brasil: UENF/Caliman 01. Em geral o grupo "Formosa" é composto por mamoeiros híbridos que apresentam frutos com peso médio de 800 a 1100g. De acordo com Ferregueti (2003), o mamoeiro do Grupo "Formosa" apresenta alta produtividade com um menor custo de produção, este

fator representa um caráter decisivo para o aumento das vendas. Entretanto, a qualidade do fruto constitui uma limitação para um aumento mais expressivo das vendas e de uma posição consolidada das frutas de mamoeiros do grupo formosa no mercado internacional. Os híbridos que representam este grupo são:

‘Tainung nº1’: este híbrido resultante do cruzamento de um tipo de mamão da Costa Rica, de polpa vermelha, com ‘Sunrise Solo’ é altamente produtivo (Sanches e Dantas, 1999). O fruto da flor feminina caracteriza-se por um formato alongado, enquanto que o da flor hermafrodita tem um aspecto comprido, pesando em média 900g. A coloração verde-clara, é típica da casca, enquanto a cor da polpa é o vermelho-alaranjado, possuindo ótimo sabor, e além do fruto ter um cheiro forte, é de boa durabilidade de transporte, entretanto possui pouca resistência ao frio. A produtividade média está em torno de 60 t/ha/ano (Medina, 1989; Marin, et al 2000; Fraife Filho et al., 2001).

‘Tainung nº 2’ obtido pelo cruzamento do “Sunrise Solo” com um tipo de mamão da Tailândia. Seus frutos possuem peso médio de 1100 g, caracteriza-se por apresentar um formato oblongo-obovado coloração da casca verde-escura, sendo a polpa vermelha, saborosa, apesar de ser pouco resistente, (Medina, 1989; Marin,etal.,2000).

‘Tainung nº 3’: também é um híbrido oriundo da Estação Experimental de Horticultura Tropical de Fengshan, em Formosa. Os frutos pesam 1300 g, aproximadamente. O progenitor feminino caracteriza-se por ser de coloração amarela, com origem nas Filipinas. Os frutos da geração F1 possuem os frutos todos com a polpa amarela, pois esse alelo é dominante sobre a cor vermelha, com a consistência média. O fruto é alongado - obovado, a coloração da casca é verde-clara (Medina, 1989; Marin et al., 2000).

Calimosa: conhecido como “Calimosa”, o mamão Uenf/Caliman01 pertence ao genótipo do grupo Formosa. O híbrido desenvolvido pela Uenf, em parceria com a Caliman Agrícola e a Pesagro-Rio , com apóio da Finep é hoje exportado para os Estados Unidos e alguns países da Europa e também pode ser encontrado em alguns supermercados dos grandes centros do Brasil.

Esta variedade de mamão possibilitou ao país economizar divisas, já que, antes dele, os pomares de mamão Formosa eram plantados unicamente com semente importada de Taiwan, em um total de aproximadamente US\$ 2 milhões ao ano. O país possui hoje uma área plantada de cerca de 10 mil hectares de mamão Formosa, o que representa uma demanda de 500 quilos de semente por ano. Uma das características do mamão *Uenf/Caliman01* é o seu excelente sabor, em função do elevado teor de doçura (grau Brix). O fruto apresenta casca fina, cor verde e polpa avermelhada. O peso chega a 1.200 gramas, o diâmetro a 10 cm e o comprimento a 21 cm. Todas as características do híbrido atendem aos padrões exigidos pelo mercado externo (Marinho, 2007).

Os trabalhos para obtenção do primeiro híbrido brasileiro de mamoeiros do Grupo Formosa, foram coordenados e executados pela Equipe do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal – LMGV, do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias – CCTA, unidades pertencentes à UENF - Universidade Estadual Norte Fluminense/FENORTE – Fundação Estadual do Norte Fluminense.

2.2 Aspectos anatômicos (ultra - estruturais das sementes)

A microscopia eletrônica de varredura é utilizada em várias áreas do conhecimento. Por ser a resolução do microscópio eletrônico de varredura de 10 angstrom ou 1 nanometro, constitui-se em uma ferramenta bastante importante em atividades de pesquisas. As aplicações do microscópio eletrônico de varredura (MEV) incluem desde estudo de organismos inteiros, tecidos e órgãos, até em certos casos, visualização *in situ* de organelas subcelulares.

O MEV usa elétrons que se dispersam ou são emitidos a partir da superfície da amostra. O feixe de elétrons é localizado dentro de uma pequena sonda que passa rapidamente para frente e para trás sobre a amostra. O rastreamento completo de cima abaixo geralmente leva apenas alguns segundos. As diferenças na superfície da amostra afetam o padrão com o qual os elétrons são dispersos a partir deste. Buracos ou fissuras aparecem escuros, as protuberâncias e saliências aparecem claras, resultando em uma imagem bidimensional com grande profundidade de campo. Somente estruturas superficiais podem ser examinadas com o MEV. Conseqüentemente, este é utilizado para estudar células inteiras, tecidos e superfícies de diversas estruturas. No que tange a agricultura é

uma técnica com potencial para ajudar a elucidar problemas referentes às áreas; fitopatologia, botânica, citologia, histologia, genética entre outras

Justo et al (2007) utilizaram a microscopia eletrônica de varredura para investigar a estrutura do embrião das sementes de uvaia *Eugenia pyriformis* Camb, bem como as alterações ultra-estruturais resultantes de secagem, germinação e armazenamento. Os autores obtiveram resultados importantes sobre a desestruturação celular gradativa mediante dessecação das sementes, bem como a respeito do conteúdo celular do meristema do caule, e a contribuição desses resultados para a fisiologia. Verifica-se na literatura a riqueza de detalhes obtida pela MEV acompanhando os processos de infecção, colonização e reprodução de diferentes isolados de *Colletotrichum* spp em plântulas de cafeeiro. Além de verificar os isolados mais agressivos, constataram também os locais preferenciais da penetração dos conídios, e a formação dos apressórios a partir do tubo germinativo (Lins et al, 2007). A caracterização da anatomia celular das diferentes estruturas das sementes de dois genótipos de *Carica papaya* somente foi elucidada após pesquisa realizada por Santos et al (2009) utilizando a MEV.

2.3 Aplicações da técnica dos raios-X em estudos de sementes

O teste de raios-X introduzido por Simak e Gustafsoon (1953) com o intuito de avaliar a qualidade de sementes de algumas coníferas, no âmbito da tecnologia de sementes, consiste na análise radiográfica das estruturas internas de sementes, sendo, atualmente utilizado para várias finalidades.

O teste baseia-se no princípio da obtenção de imagens com o emprego de raios-X. Assim, ao atravessar as sementes, um feixe de raios-X cria uma imagem permanente dessas sobre um filme. As imagens podem apresentar maior ou menor grau de radiopacidade (claras) e radioluminescência (escuras) em função do nível de absorção dos raios-X pelas sementes, determinado pelos fatores composição, espessura e densidade dos tecidos e comprimento de onda da radiação ionizante (Simak, 1980; ISTA, 1993).

As condições da amostra a ser analisada pelos equipamentos ou aparelhos de raios-X requerem tempos de exposição diferentes, bem como níveis de intensidades diferentes para produzir a melhor imagem. As regulagens variam também para diferentes espécies. Sementes de tomate foram expostas a uma

intensidade de 10 KVp por 3-5 minutos (Liu et al., 1997). Já sementes de *Pinus sylvestris* foram expostas à mesma intensidade por 25 segundos (Simak et al., 1989). Ambos os trabalhos foram realizados utilizando o aparelho de raios-X Faxitron HP modelo 43805N.

Embora os raios-X sejam potencialmente nocivos às sementes, a baixa dose absorvida durante o teste não causa mutações genéticas nas sementes e não afeta a germinação das mesmas (Simak e Gustafsson, 1953; Swaminathan e Kamra 1961; Bino et al 1993). Além disso, trata-se de um teste que não requer tratamento prévio das sementes, o que confere vantagens por ser um método não destrutivo, rápido e de simples execução. Em razão disso, o seu uso tem sido crescente, trazendo benefício em diferentes etapas da produção e utilização das sementes, incluindo trabalhos de melhoramento genético.

A radiografia das sementes permite a visualização de injúrias mecânicas, danos por insetos e decorrentes de outros fatores adversos pré e pós-colheita, na forma de rachaduras ou fraturas (Simak, 1980; ISTA, 1993; Polsen et al, 1998); possibilita, ainda, a detecção de anormalidades em embriões, bem como a determinação do estágio de desenvolvimento dos mesmos (Simak e Gustafson, 1953; Simak, 1980).

Em programas de controle de qualidades de sementes de espécies florestais (Simak e Gustafsson, 1953; Simak, 1980) e de olerícolas (Chavagnat, 1987), é um método rotineiro.

A técnica de raios-x pode ser útil em programas de melhoramento de plantas por permitir o isolamento de embriões mutantes de *Arabidopsis thaliana* (Bino et al, 1953) e a obtenção de embriões haplóides de melão (Sauton et al 1989).

O método permite, ainda, determinar a viabilidade de sementes. Nesse caso, o procedimento consiste em impregnar as sementes de agentes de contraste como metais e água, previamente à radiografia dos mesmos (Simack 1980; Copeland e Mac Donald, 1985; Poulsen et al 1998). O método tem sido adotado na avaliação de sementes de *Pinus* spp (Simak, 1970, 1980, 1984; Simak E Kamr, 1963; Sahlén, 1995), milho (Smith e Grabe, 1985), algumas curcubitáceas (Kamra, 1964, 1966), entre outras espécies agrícolas e florestais (Swaminathan e Kamra, 1961).

A informação sobre sementes defeituosas e vazias é desejável já que pode influenciar nos resultados de germinação (Craviotto et al., 2002). Pesquisa realizada por Machado (2002) utilizando a técnica de raios-X permitiu que a autora verificasse que as sementes radiografadas de aroeira branca (*Lithraea molleoides* (Vell) Eng.) ao serem analisadas revelaram danos e anormalidades em sua estrutura, que interferiram negativamente na germinação das sementes. O uso da técnica de raios-X permitiu a detecção de danos e anormalidades em embriões de sementes de acerola que são prejudiciais à germinação (Nacif e Cícero, 2007).

Sementes morfologicamente perfeitas indicadas pelo teste de raios-X podem originar plântulas normais ou anormais e as sementes podem estar dormentes ou mortas. A variação das estruturas originadas e decorrência de condições ambientais desfavoráveis à germinação, da presença de sementes com infecções latentes, de sementes mortas por causas naturais e em estádios avançados de deterioração ou submetidas ao armazenamento inadequado (Van Der Burg et al., 1994). Camargo (1997) ressaltou a importância do desenvolvimento de testes rápidos para avaliação de viabilidade de sementes, principalmente para aquelas com baixa capacidade de armazenamento e germinação lenta, como é o caso da lenta e desuniforme germinação das sementes de *Carica papaya*.

2.4 Melhoramento e germoplasma do mamoeiro

O melhoramento genético do mamoeiro no Brasil vem crescendo notoriamente, graças à atuação séria dos melhoristas aliado ao grande avanço tecnológico. Dados atuais confirmam estas informações, visto que apresenta a maior produção mundial, em torno de 1.573.819 toneladas em uma área de 32.3559 há (FAO, 2004; IBGE, 2006). Considerando também as exportações que o posiciona no 3º lugar do ranking mundial com demandas anuais da ordem de 80.000 toneladas, que aumentaram cerca de quase duas vezes o volume total exportado pelo país em 2004. Entretanto, apesar do crescimento da cultura, existe uma carência de informações referentes à escolha de cultivares, linhagens, híbridos com características agronômicas desejáveis (Netto et al, 2007). O sucesso de qualquer programa de melhoramento depende, principalmente, dessa

escolha a partir de informações a respeito da natureza e magnitude dos efeitos dos genes que controlam os caracteres quantitativos de interesse econômico (Patel et al., 1998).

A hibridação representa uma técnica muito importante para o melhoramento de plantas, uma vez que possibilita a recombinação da variabilidade disponível, permitindo a obtenção de novos materiais, geneticamente superiores. A escolha dos parentais a serem utilizados em programas de hibridação e que possibilitem a formação de progênies superiores representa uma atividade que exige critérios e grande esforço dos melhoristas (Ramalho et al., 1993.).

O gênero *Caricaceae* apresenta espécies cujo cruzamento interespecífico não tem obtido muito sucesso, apesar de ser constatado na literatura pesquisas utilizando a técnica de resgate de embriões in vitro, para vencer o obstáculo da incompatibilidade genética entre as espécies que são distantes filogeneticamente.

A obtenção de híbridos para aumentar a variabilidade genética de *Carica papaya* L. é muito importante, pois a mesma possui uma base genética estreita. Dessa forma, apesar da existência dessa variabilidade interespecífica, ainda não poder ser utilizada, todavia é possível explorar os acessos da espécie *Carica papaya* L., dentro dos programas de melhoramento, de forma a obter ganhos significativos sem provocar grandes alterações no genoma da espécie cultivada.

Para isso, é imprescindível promover a caracterização do germoplasma disponível, de forma a determinar as relações existentes entre eles. Dentro desse contexto, os melhoristas têm direcionado esforços para os trabalhos de detecção da variabilidade genética, especificamente para a espécie *Carica papaya* L., através da caracterização dos acessos existentes nos Bancos de Germoplasma.

É sabido que todo banco de germoplasma deve conter uma variabilidade genética mínima que represente o acesso em termos de tamanho efetivo e frequências alélicas. Contudo, tal número é discutível e varia de acordo com o tipo do germoplasma que compõe o banco. Segundo Vencovsky (1986), para uma espécie diplóide e alógama, como o milho, uma amostra de 1.000 sementes seria suficiente para a conservação dos acessos. No caso do mamoeiro, que possui flores unissexuais e hermafroditas, que dão origem a plantas do sexo masculino (forma andrónica), feminino (ginónica) ou hermafrodita (androgínica) (Marin et al.,

1989), não existem informações sobre o número mínimo de acessos ou de sementes a serem utilizadas para sua conservação.

No Banco de germoplasma, a conservação, caracterização e avaliação da variabilidade genética do mamoeiro, bem como sua disponibilização à comunidade científica, propiciarão ganhos genéticos expressivos, além de garantir a sustentabilidade do agronegócio brasileiro, tornando-o mais produtivo e competitivo. O resultado de um desses esforços foi a obtenção do primeiro híbrido brasileiro, desenvolvido pela Universidade Estadual do Norte Fluminense-UENF em parceria com a empresa Caliman agrícola e a Pesagro-Rio (Marinho et al, 2007).

Pórem, as próprias pesquisas realizadas com os recursos genéticos ainda são pouco exploradas. Um fato de extrema relevância, entretanto carente de informações é a própria semente do mamoeiro detentora de toda bagagem genética que irá formar a planta (Santos et al, 2009). As características estudadas para detectar a variabilidade genética pelos descritores estão concentradas nas características morfo agronômicas da planta, utilizando técnicas moleculares, entre elas o estudo de microssatélites, mapeamento genético, seleção assistida entre outros.

Na mesma linha de raciocínio, verifica-se que até mesmo o planejamento para escolha do uso do delineamento que será utilizado no programa de melhoramento genético, é inexistente, pesquisa cujo o foco seja a semente.

Consta na literatura que o Banco de germoplasma Mamão-BAG-mamão, da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical tem procurado levar a campo pelo menos dez plantas por acesso e armazenar cerca de 1.000 sementes a 4°C,mas não foi verificado estudos que caracterizam a semente do mamoeiro, que apresenta uma serie de problemas relacionado a escolha dos genótipos, para ampliar a base genética devido principalmente ao grave problema de sua germinação.

2.5 Dialelo

Uma alternativa viável para solucionar o problema da base genética estreita do mamoeiro, é aumentar a sua variabilidade intra-específica através de programas de melhoramento utilizando hibridações. A hibridação representa uma

técnica muito importante para o melhoramento de plantas, uma vez que possibilita a recombinação da variabilidade disponível, permitindo a obtenção de novos materiais, geneticamente superiores. A escolha dos parentais a serem utilizados em programas de hibridação e que possibilitem a formação de progênes superiores representa uma atividade que exige critérios e grande esforço dos melhoristas (Ramalho et al., 1993). De acordo com Marin (2001), é justamente a falta de informações sobre parâmetros genéticos e herança das principais características de interesse econômico, além da inexistência de trabalhos sobre capacidade de combinação e de procedimentos de melhoramento genético com espécie *Carica papaya* L., que tem contribuído para a dependência do país de importação de sementes do mercado externo.

Muitas pesquisas de melhoramento genético são realizadas com o objetivo de conhecer a expressão média de um caráter, que por sua vez é avaliado segundo as observações fenotípicas. É possível reproduzir um genótipo por um grande número de indivíduos, em um dado ambiente, e conseqüentemente a média fenotípica se aproximará do valor genotípico desse genótipo (Vencovisk e Barriga, 1992). Segundo o autor, para cada delineamento existe um modelo descritivo das observações fenotípicas.

Entre os delineamentos genéticos disponíveis, os cruzamentos dialélicos se destacam, provendo estimativas de parâmetros úteis na seleção de genitores para hibridação e no entendimento dos efeitos genéticos envolvidos na determinação dos caracteres (Cruz & Regazzi, 1994).

A seleção de parentais com base na avaliação “per se” nem sempre conduz a resultados satisfatórios (ALLARD, 1971). Assim, a escolha de parentais deve ser fundamentada na informação genética como um todo e no conhecimento do potencial da capacidade combinatória dos parentais (AHMEDE et al., 1998).

Dessa forma, as metodologias de análise dialélica têm por finalidade analisar o delineamento genético, fornecendo estimativas de parâmetros úteis na seleção de parentais para a hibridação e no entendimento dos efeitos genéticos envolvidos na herança dos caracteres (CRUZ et al., 2004). E de acordo com Geraldi & Miranda - Filho (1998), os sistemas de cruzamentos dialélicos são bastante utilizados no melhoramento de plantas, uma vez que possibilitam a avaliação da capacidade combinatória e do potencial heterótico de variedades ou linhas em cruzamentos, ou nos estudos básicos da estrutura genética das populações.

Uma definição de cruzamento dialélico é que são delineamentos genéticos estatísticos em que n parentais são cruzados dois a dois (Cruz et al., 2004; Ramalho et al., 1993). Em todos os métodos de cruzamento dialélicos, é imprescindível obter dados que permitam uma análise estatística (análise dialélica), ou seja, onde os híbridos formados são avaliados em experimentos com repetições e as médias dos tratamentos são utilizadas para formar uma tabela dialélica $n \times n$. As possíveis n^2 combinações podem então ser avaliadas, fornecendo resultados do comportamento dos genitores, do cruzamento entre eles e seus híbridos recíprocos.

Griffing (1956) apresentou quatro possíveis métodos de análise.

Método 1: todas as p^2 combinações são incluídas, são analisados todos os cruzamentos possíveis, incluindo os genitores e os recíprocos;

Método 2: envolve as $p(p+1)/2$ combinações, faltando os híbridos F1's recíprocos;

Método 3: são incluídas as $p(p-1)$ combinações, faltando os genitores; apenas os híbridos e seus recíprocos;

Método 4: que inclui as $p(p-1)/2$ combinações, onde somente os híbridos são utilizados na análise.

Há ainda que considerar que dependendo dos resultados dos tratamentos experimentais fornecerem conclusões que podem ser extrapoladas para uma população, ou seja, os tratamentos representam uma **amostragem da população**, ou se as conclusões são **restritas apenas aos tratamentos** em questão, os métodos de Griffing podem ser classificados em **modelo aleatório** ou **modelo fixo**, respectivamente (Hallauer & Miranda Filho, 1988). Sprague e Tatum (1942) contribuíram para melhor utilização desse método, conceituando e aprimorando os conceitos da capacidade geral de combinação (CGC) e da capacidade específica de combinação (CEC). Segundo os autores, a capacidade geral de combinação (CGC) é uma medida do comportamento relativo de uma linhagem em uma série de cruzamentos e está associada a efeitos genéticos aditivos. A capacidade específica de combinação (CEC) representa o desvio, para melhoria ou não, de um determinado cruzamento, tomando por base a média da CGC dos parentais. É resultado dos efeitos de dominância, epistasia e vários tipos de interações.

A análise de cruzamentos dialélicos é um método utilizado freqüentemente nas pesquisas de caracteres quantitativos no melhoramento vegetal fornecendo

contribuições relevantes. Para o mamoeiro essas pesquisas dentro desse contexto são incipientes, pouco exploradas, e trabalhando em sua maioria com aspectos morfológicos da planta ou do fruto.

As informações que são obtidas de uma análise dialélica podem trazer contribuições muito relevantes para a escolha da combinação dos genitores. Sendo a germinação uma característica quantitativa e imprescindível para formação de um pomar comercial cuja propagação é basicamente seminífera, justifica esse trabalho na busca da melhor combinação de cruzamento de genótipos para contribuir na eliminação da problemática que envolve a germinação das sementes de mamão.

2.6 Parâmetros genéticos método de Griffing

As metodologias propostas por Griffing (1956) permitem obter informações a respeito das CGC e CEC. As estimativas dos efeitos da capacidade geral de combinação (\hat{g}_i) fornecem informações a respeito das potencialidades do parental em gerar combinações favoráveis à formação de genes predominantemente aditivos em seus efeitos. Quanto mais altas forem essas estimativas, positivas ou negativas, determinado parental será considerado muito superior ou inferior aos demais incluídos no dialelo, e, se próximas de zero, seu comportamento não difere da média geral dos cruzamentos (Cruz et al., 2004).

Assim, aqueles parentais com as maiores estimativas positivas ou negativas de \hat{g}_i seriam potencialmente favoráveis quanto às suas contribuições em programa de melhoramento intrapopulacional (Oliveira Júnior et al., 1999). Genes de efeitos aditivos são fixados ao longo das sucessivas gerações de autofecundação, sendo, sobretudo, importantes para espécies autógamas, enquanto que genes de efeitos dominantes são mais expressivos em populações alógamas.

Em relação à CEC baixas estimativas (\hat{s}_{ij}) positivas ou negativas significam que o comportamento de determinado híbrido é função da capacidade geral de combinação (CGC) de seus parentais; enquanto valores absolutos altos de \hat{s}_{ij} indicam que algumas combinações são relativamente melhores e outras piores, com base na CGC dos parentais (Sprague e Tatum, 1942).

3 TRABALHOS

3.1 ESTUDOS MORFO ANATÔMICOS DE SEMENTES DE DOIS GENÓTIPOS DE MAMÃO (*Carica papaya* L.)

RESUMO A propagação do mamoeiro *Carica papaya* L. é realizada por meio de mudas oriundas das sementes. Apesar da importância da semente do mamoeiro para a formação dos pomares comerciais, estudos morfológicos e anatômicos neste sentido são raros. O presente trabalho descreve aspectos morfológicos e anatômicos das estruturas que constituem as sementes de dois genótipos do mamoeiro, *Sunrise Solo 783* e *Formosa Roxo 45*. *Sunrise Solo 783* e *Formosa Roxo 45* pertencem aos dois grandes grupos ‘Solo’ e ‘Formosa’, respectivamente. Os referidos genótipos foram oriundos do Banco de Germoplasma da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) em parceria com Empresa Caliman Agrícola S.A. A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG. Para a caracterização morfológica procedeu-se a dissecação e observação das estruturas utilizando bisturi, pinças e sexploradora sob microscópio estereoscópico. Para a caracterização anatômica utilizou-se a microscopia eletrônica de varredura. As amostras foram preparadas de acordo com a metodologia de rotina do Laboratório de Microscopia Eletrônica da UFLA e observadas a alto vácuo em diversos aumentos no microscópio Leo Evo 40, à distância de trabalho de 10 mm. As medições foram realizadas usando-se o Software Leo User Interface (versão Leo 3.2). Os estudos morfológicos permitiram identificar as estruturas que compõem a semente do mamoeiro e os estudos anatômicos permitiram observar a

existência de diferenças estruturais e dimensionais entre as células dos dois genótipos estudados.

Termos para indexação: *Carica papaya* L., morfologia, anatomia, sementes.

¹Submetido em 30/05/2008. Aceito para publicado em 25/11/2008. Parte da tese de Doutorado do primeiro autor apresentada a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro UENF-Campos dos Goytacazes - Rio de Janeiro-Brasil (soniarmg523@hotmail.com)

²Roberto Ferreira da Silva, Ph.D. Prof. Titular, Departamento de Tecnologia de Sementes - UENF, roberto@uenf.br;

³Messias Gonzaga Pereira, Ph.D. Prof. Adjunto, Departamento de Genética e Melhoramento Genético de Plantas - UENF, messias@uenf.br;

⁴Eduardo Alves, Dr. Professor Adjunto, Departamento de Fitopatologia - UFLA, ealves@ufla.br;

⁵José da Cruz Machado, Dr. Professor Titular, Departamento de Fitopatologia - UFLA, machado@ufla.br ;

⁶Flávio Meira Borém, Dr. Professor Associado 2, Departamento de Engenharia Agrícola - UFLA, flavioborem@ufla.br,

⁷Renato Guimarães Mendes Guimarães, Dr. Professor Associado, Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Lavras MG-UFLA, renatomg@ufla.br ;

⁸Elizabeth Rosemeire Marques, Engenheira Agrônoma-MSc. Ciência dos Alimentos-UFLA, bethagro@yahoo.com.br ,

MORPHOLOGICAL AND ANATOMICAL STUDIES OF SEEDS OF TWO GENOTYPES OF PAPAYA *Carica papaya* L.

ABSTRACT The papaya (*Carica papaya* L.) propagation is made by seedlings produced from true seeds. Although the use of seeds in the implementation of commercial papaya orchards is well documented in literature, studies on the anatomy and morphology of these structures are in small number. In present work morphological and anatomical aspects of the seeds from two papaya genotypes *Sunrise Solo 783* and *Formosa Roxo 45*, belonging to two groups, 'Solo' and 'Formosa' are described. These genotypes were obtained of Gemoplasm Bank of the Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) in cooperation with the company Caliman Agrícola S.A. The work was carried out at the Eletronic Microscopy and Ultra-structural Analisis Laboratory of the Universidade Federal de Lavras (UFLA). To make the morphological characterization, the seeds were dissected carefully by hand and observed in the stereomicroscope. For the anatomic studies, seeds were prepared according to the routine protocol of the LME and observed in scanning electronic microscope Leo Evo 40, at work distance of 10 mm under high vacuum conditions. Measurements were made using the Software Leo User Interface (Version Leo 3.2). The results of the morphological studies provide adequate conditions to observe the different structures of the papaya seeds and from anatomic studies it was possible to verify structural and dimensional differences among the cells of the two genotypes under investigation.

Terms for indexation: *Carica papaya*, morphology, anatomy, seeds.

INTRODUÇÃO

O mamoeiro *Carica papaya* L., é uma frutífera de grande importância econômica, sendo cultivada principalmente nos países tropicais possuindo ótima aceitação no mercado mundial. Embora possa ser propagado assexuadamente por meio de enxertia, estaquia, ou cultura de tecidos, comercialmente, o mamoeiro é propagado por meio de mudas oriundas de sementes. É considerada uma frutífera de crescimento rápido e elevada precocidade,

iniciando o florescimento entre três e quatro meses, propiciando as primeiras colheitas a partir do oitavo mês (LYRA et al., 2007).

O mamoeiro cultivado possui três tipos de flores: feminina, masculina e hermafrodita. Segundo Hofmyer (1938) e Storey (1938), a herança do sexo nesta espécie é monogênica com três alelos designados pelos símbolos m , M^1 e M^2 . Indivíduos com os genótipos mm , M^1m M^2m , são respectivamente, feminino, masculino e hermafrodita. Em geral, o mamoeiro é classificado conforme a característica do fruto, sendo dividido em dois grandes grupos: o 'Solo' e 'Formosa'. O grupo 'Formosa' abrange híbridos F1, entre eles se encontra o Taninung 01, resultado do cruzamento de um tipo de mamão de polpa vermelha, da Costa Rica com o Sunrise Solo.

Dos problemas relacionados com o mamoeiro no Brasil, ressalta-se a limitação de alternativas para a escolha de variedades e híbridos comerciais para o plantio e aliado a isto, o elevado preço das sementes híbridas do mamoeiro do grupo 'Formosa', geralmente importadas de Taiwan.

A coleta e introdução de acessos, a conservação e intercâmbio, bem como a caracterização e avaliação de germoplasma são etapas necessárias e imprescindíveis à preservação e utilização de recursos genéticos. Para que a diversidade genética disponível nos bancos de germoplasma seja utilizada, é necessário que os acessos sejam caracterizados e documentados. Assim, a avaliação de aspectos morfológicos e anatômicos das sementes dos acessos do mamoeiro é importante para fornecer informações sobre o material básico para programas de melhoramento genético.

A caracterização da estrutura da semente do mamoeiro é pouco conhecida, levando muitas das vezes a contradições em relação à terminologia das estruturas das sementes como é o caso da sarcotesta e do arilo. A sarcotesta das sementes de *Carica papaya* L. já foi considerada como arilo, mas estudos relacionados ao desenvolvimento destas sementes mostraram que ela representa o próprio tegumento ou parte dele, não sendo, portanto, uma excrescência do tegumento, como é o arilo (Foster, 1943; Modesto e Siqueira, 1981; Paoli, 2006).

O objetivo desse trabalho foi caracterizar os componentes estruturais das sementes de dois genótipos de *Carica papaya* L., *Formosa Roxo 45* e *Sunrise Solo783*, pertencentes aos grupos 'Formosa' e 'Solo', respectivamente, utilizando a microscopia eletrônica de varredura, visando subsidiar programas de melhoramento genético e a conservação do germoplasma do mamoeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram conduzidas no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-Estrutural (LME) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

Genótipos utilizados: As sementes utilizadas foram provenientes dos frutos de plantas com flores hermafroditas de linhagens do grupo 'Solo' - *Sunrise Solo 783* e do grupo 'Formosa' - *Formosa Roxo 45*, procedentes do Banco de Germoplasma da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) Campos dos Goytacazes-RJ, em parceria com a Empresa Caliman Agrícola S.A., localizada em Linhares-ES. Foram utilizados frutos no estágio de maturação 5, conforme descrito por Aroucha (2004). As sementes foram extraídas manualmente, e secas em estufa de acordo com Brasil (1992). A exotesta (sarcotesta) foi retirada por meio de fricção em peneira, sob água corrente. Esta etapa foi realizada no Laboratório de Tecnologia de Sementes - UENF. As sementes assim previamente preparadas constituíram as amostras, que foram transportadas para a UFLA, embaladas em sacos de papel por 10 h, dentro de uma caixa de isopor com o interior contendo gelo plastificado. No Laboratório de Microscopia Eletrônica - UFLA as sementes foram armazenadas em câmara fria com 60% de umidade e 3,4 °C de temperatura até sua utilização. Foram aplicados os seguintes testes e determinações: Testes microquímicos: As amostras das sementes foram submetidas a finos cortes realizados manualmente com lâmina, em placa de petri, sendo utilizados os corantes: Sudan IV para evidenciar lipídios, solução de ácido clorídrico e sulfúrico para localizar cristais de oxalato de cálcio, reagente de Lugol para amido e eosina diluída para identificação de proteínas (Joahansen, 1940). Microscopia eletrônica de varredura: inicialmente as amostras foram imersas em solução fixativa Karnovsky por 24h. Após a fixação, foram transferidas para o líquido crioprotetor (glicerol 30%), por 30 min., e cortes com bisturi foram realizados longitudinalmente e transversalmente sobre uma superfície metálica colocada em um recipiente contendo nitrogênio líquido. Em seguida, os espécimes foram lavados três vezes em água destilada e, subsequentemente, desidratados em série de acetona (25%, 50%, 75%, 90% e 100%, por três vezes), e logo após submetidos a secagem em aparelho de ponto crítico (Blazers CPD 030). Após a secagem, os espécimes foram montados em stubs com fita de carbono dupla face, colocada sobre uma película de papel alumínio e cobertos com ouro em evaporador (BALZERS SCD 050). A visualização das amostras foi feita em microscópio eletrônico de varredura LEO Evo 40XVP. Diversas imagens foram geradas e registradas digitalmente a aumentos variáveis. As imagens geradas foram gravadas e abertas em Software Photopaint

do pacote Corel Draw 12, onde foram devidamente selecionadas, preparadas e apresentadas neste trabalho. Medições das imagens geradas: as medidas foram obtidas usando-se o Softwarwe Leo User Interface (versão Leo 3.2) disponível no microscópio eletrônico de varredura para não ocorrerem distorções na escala. Separação das estruturas: O tegumento foi retirado cuidadosamente da amostra da semente, com bisturi utilizando lâmina 11 com o auxílio de pinça, obtendo-se o endosperma. Após a retirada do tegumento, e a partir do endosperma promoveu-se a excisão do eixo embrionário com os cotilédones utilizando pinça, bisturi com lâmina 11 e sexploradora. Estes passos foram realizados sob o microscópio estereoscópio (Meiji Techno Co., LTD. - JAPAN) Modelo: RZT/100 STAND e fotografadas no próprio aparelho.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfologia da semente: as sementes secas, maduras, e sem sarcotesta de ambos os genótipos, possuem um formato elipsóide, com protuberâncias e coloração marrom-escuro (Figura 1 A). A exotesta (sarcotesta) consiste da proteção mucilaginosa que reveste a semente, e não apresentada neste trabalho.

O endosperma possui coloração branca leitosa, (Figura 1. B) e consistência firme. Em ambos os genótipos observou-se que a semente possui um único eixo embrionário e dois cotilédones bem aderidos ao endosperma, o que dificulta sua excisão e que, apesar de estar bem aderido ao endosperma, o eixo embrionário e os dois cotilédones, constituem uma estrutura individualizada e possuem coloração branca leitosa (Figura 1. C-D). Foi comum encontrar no genótipo *Formosa roxo 45* sementes com três cotilédones, e menos comum no *Sunrise Solo 783*.

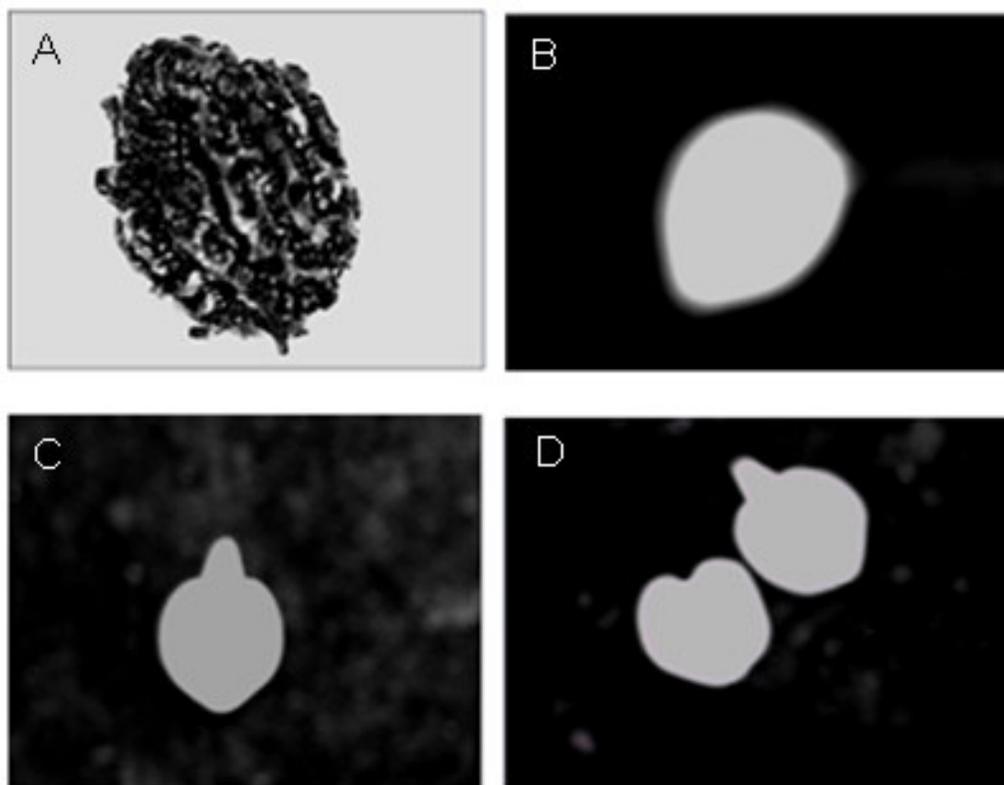


FIGURA 1. Esteriomicrografias de semente de *Carica papaya* L. Aspectos morfológicos: A-vista externa; B-vista externa do endosperma de coloração branca leitosa; C-D -vista externa do eixo embrionário com os dois cotilédones. Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-Estrutural-UFLA/MG/2008

Por meio de cortes longitudinais das sementes (Figura 2), foi possível observar que as protuberâncias possuem coloração marrom-escura na parte mais externa, constituindo a mesotesta. Na seqüência encontra-se a endotesta caracterizada por uma camada de coloração marrom-clara. Abaixo da endotesta observa-se o tégmen caracterizado por uma camada de tonalidade bege. As camadas mesotesta, endotesta e tégmen constituem a estrutura tegumento que reveste o endosperma.

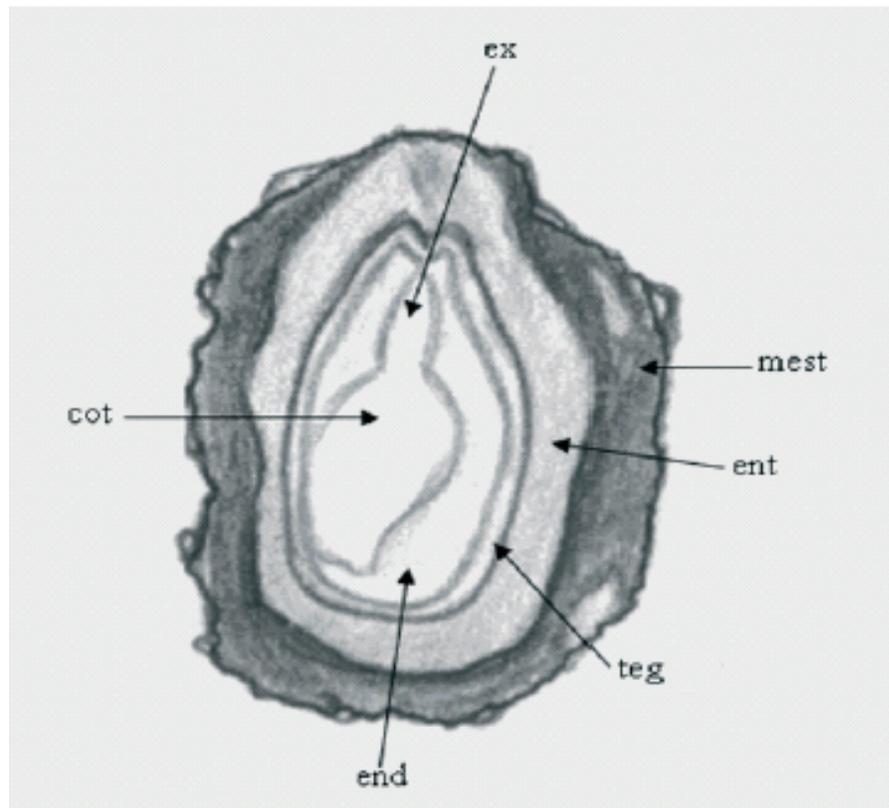


FIGURA 2 - Semente de *Carica papaya* L. Corte longitudinal com esquema. Legenda: mest - mesotesta; ent - endotesta, teg - tégmen, cot - cotilédono, end - endosperma, ex - eixo embrionário hipocótilo radícula.

A literatura reporta a presença de poliembrião somática *in vivo* e ausência de endosperma para sementes do grupo ‘Solo’ “*in vivo*” (Vegas et al., 2003). O trabalho do referido autor discorda desse, no que tange à coloração das camadas para sementes maduras, que ao invés de terem as camadas com coloração marrom-escuro e marrom-clara, apresentavam coloração branca. Também foi verificado em sementes zigóticas de mamão do tipo *Amameyada* dois embriões para cada semente, o que não condiz com o verificado nesse trabalho e a presença de endosperma sólido (Vegas et al., 2003). Algumas vezes, penetram no óvulo vários tubos polínicos, promovendo a fecundação das sinérgides e antípodas, antes que estas se desintegram, este fenômeno também é conhecido como poliembrião zigótica (Modesto e Siqueira, 1981). Nesse trabalho, observou-se apenas um embrião zigótico, ocorrendo diversas sementes chochas para o genótipo do grupo ‘Solo’.

Anatomia da semente: as sementes do *Formosa Roxo 45* e do *Sunrise Solo 45* são bitegumentares, ou seja, possuem testa e tégmen conforme constatou Foster (1943), em estudo sobre o desenvolvimento da semente de mamão. Segundo Foster (1943), Modesto e

Siqueira (1981) e Gaburro et al. (2007), sementes de *Carica papaya* L., possuem dois tegumentos oriundos dos integumentos externo e interno do óvulo, sendo que esses integumentos são constituídos por camadas celulares e juntos formam a micrópila.

Nas sementes dos dois genótipos estudados, *Sunrise Solo 783* e *Formosa Roxo 45* foram observados os seguintes tecidos: exotesta (sarcotesta - não apresentado) mesotesta e endotesta, (oriundos do integumento externo) e o tégmen (oriundo do integumento interno) (Figura 3). As células são parenquimáticas, variando nas formas, o parênquima é o principal representante do tecido fundamental e é encontrado em todos os órgãos da planta (Esau, 1976).

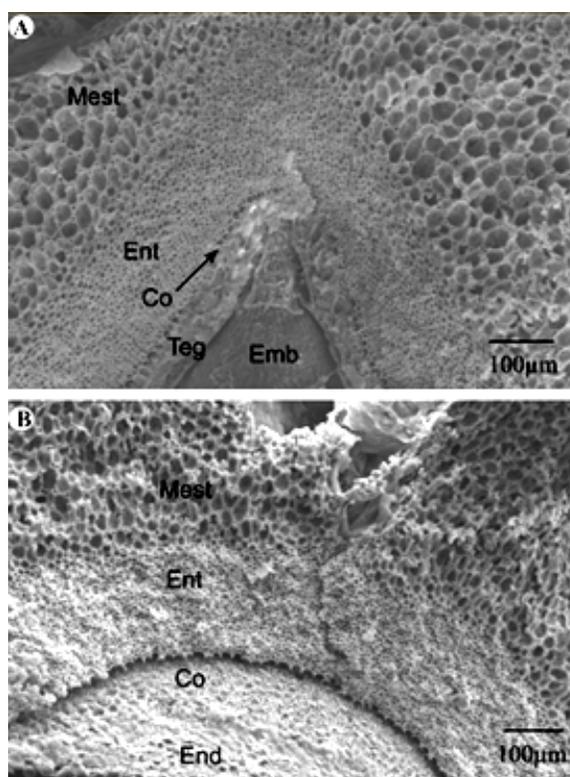


FIGURA 3 - Imagem obtida utilizando microscópio eletrônico de varredura de semente de *Carica papaya* L, genótipo *Sunrise Solo 783*. A – corte longitudinal com destaque da semente, B – corte longitudinal com destaque do tegumento. Legenda: mest – mesotesta, ent – endotesta, teg – tégmen, ex – eixo embrionário. Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra Estrutural - UFLA/MG/ 2008

As células da mesotesta de ambos os genótipos são isodiamétricas, entretanto, no *Sunrise Solo 783* as células são mais longas, quando comparadas com as células da mesotesta de *Formosa Roxo 45*. (Figura 4). Pelas medições realizadas, observa-se que a

mesotesta das sementes de *Sunrise Solo 783* e de *Formosa Roxo 45* não possuem as mesmas dimensões: parede celular de 2,081 μm , semi-eixo maior de 47,70 μm , semi-eixo menor de 32,18 μm no *Sunrise Solo 783*; e parede celular 2,688 μm , semi-eixo maior 38,95 μm e semi-eixo menor 29,75 μm no *Formosa Roxo 45* (Figura 4).

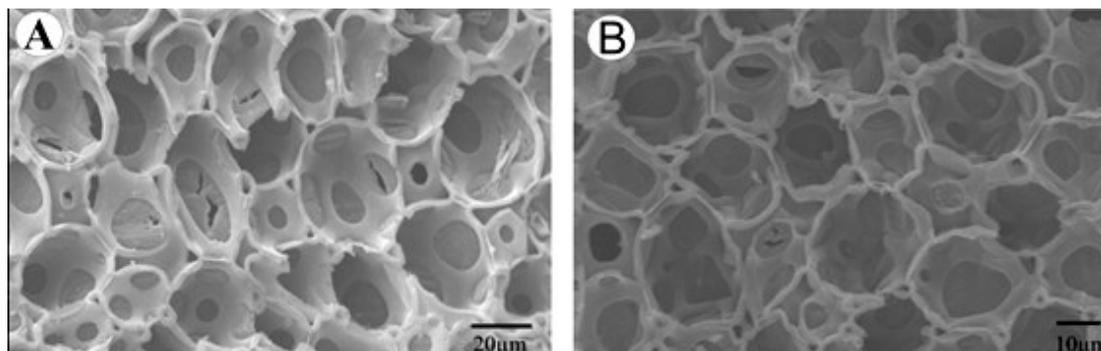


FIGURA 4 - Imagem obtida utilizando microscópio eletrônico de varredura de semente de *Carica papaya* L.. A - corte longitudinal com destaque das células da mesotesta do *Sunrise Solo 783*, B - corte longitudinal com destaque das células da mesotesta de *Formosa Roxo 45*. Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra Estrutural - UFLA/MG 2008

As células da epiderme são alongadas, justapostas, semelhante-se a uma paliçada, ao passo que a camada de células da mesotesta forma protuberâncias no tegumento das sementes estudadas (Figura 5). Em estudos com *Jacaratia spinosa* Paoli (2006), constatou que o tegumento externo do óvulo é multiplicativo; sofre várias divisões periclinais, aumentando o número de camadas celulares, sendo que estas divisões não se processam de maneira uniforme em toda a circunferência da semente, formando protuberâncias cônicas em faixas longitudinais.

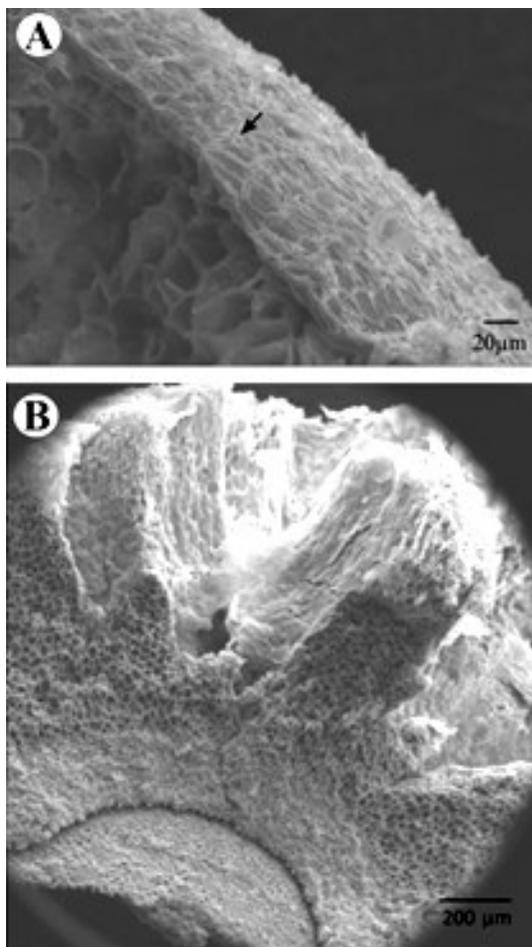


Figura 5 - Imagem obtida utilizando microscópio eletrônico de varredura de semente de *Carica papaya* L. A - corte longitudinal com destaque da epiderme. B - corte longitudinal com destaque das protuberâncias da mesotesta. Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-Estrutural. - UFLA/MG/ 2008

As células mais internas da endotesta contêm cristais de oxalato, em ambos os genótipos. *Sunrise Solo 783* contém maior quantidade de células cristalíferas em relação à *Formosa Roxo 45*. Observou-se também no genótipo *Formosa Roxo 45* a presença de algumas células da camada cristalífera que são desprovidas dos cristais de oxalato (Figura 6).

O tégmen localiza-se abaixo da camada de células cristalíferas da endotesta em ambos os genótipos. No *Sunrise Solo 45* o tégmen é constituído de uma camada de células de formato alongado, seguido por camadas de células de formato achatado, enquanto que no *Formosa Roxo 45*, as células que constituem o tégmen possuem apenas o formato achatado, e em maior quantidade (Figuras 6).

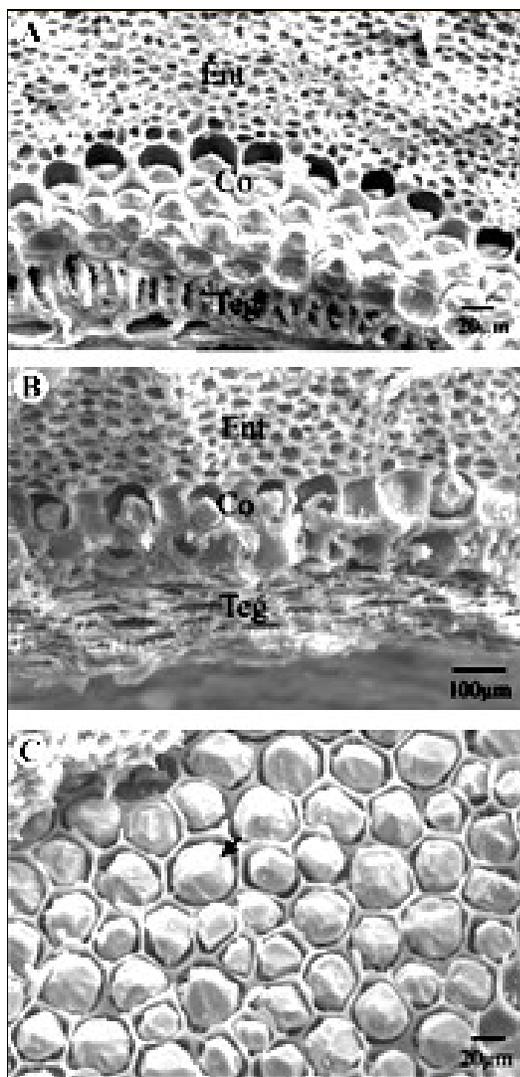


FIGURA 6 - Imagem obtida utilizando microscópio eletrônico de varredura de semente de *Carica papaya* L. A - corte longitudinal com destaque da endotesta cristalífera e tégmen do *Sunrise Solo 783*, B - corte longitudinal com destaque de endotesta cristalífera e tégmen do *Formosa Roxo 45*. Legenda: Ent - endotesta, Co - cristais de oxalato, Teg - tégmen. Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra Estrutural - UFLA/MG/ 2008

Nos endospermas do *Sunrise Solo 783* e do *Formosa Roxo 45*, observou-se a presença de lipídios e camada protéica de aleurona, mas não se constatou amido, embora o eixo embrionário e os cotilédones sejam ricos nesse polissacarídeo em ambos os genótipos, conforme constatado também por Foster (1943) e Pouyú et al (2007) (Figura 7).

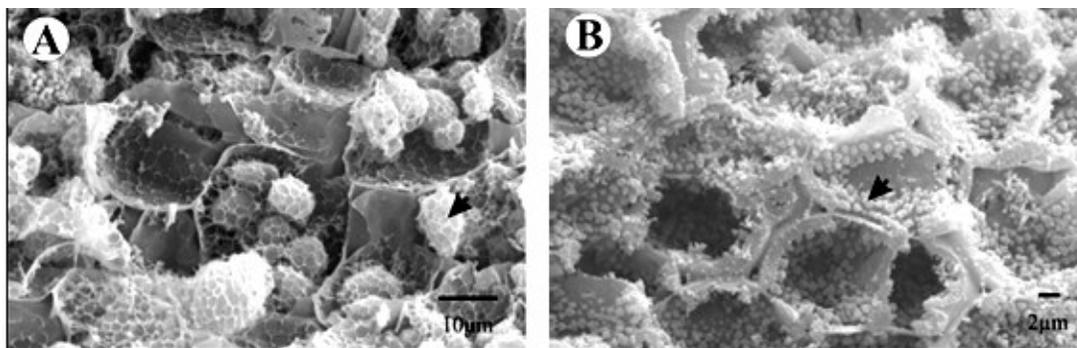


FIGURA 7- Imagem obtida utilizando microscópio eletrônico de varredura de *Carica papaya* L . A - corte longitudinal com destaque dos grânulos de amido, B - corte longitudinal com destaque das gotículas de lipídios. Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-Estrutural - UFLA/MG/2008

CONCLUSÕES

Os estudos morfológicos conduzidos neste trabalho permitiram observar que o tegumento das sementes dos dois genótipos de mamão: *Sunrise Solo 783* e *Formosa Roxo 45* representantes dos grupos ‘Solo’ e ‘Formosa’ de *Carica papaya* L. é composto por testa (exotesta, mesotesta e endotesta) e tégmen. O endosperma possui coloração branca leitosa. O eixo embrionário e os cotilédones possuem coloração branca leitosa, consistência firme e encontram-se bem aderidos ao endosperma, em ambos os genótipos. De uma maneira geral, as sementes de ambos os genótipos apresentaram apenas um embrião com dois cotilédones. Em algumas sementes dos dois genótipos, entretanto, foi constatado um embrião zigótico com três cotilédones. No *Sunrise Solo 783* observou-se a presença de sementes chochas.

Por sua vez, os estudos anatômicos permitiram observar que as células da mesotesta dos dois genótipos estudados mostraram diferenças anatômicas em relação ao tamanho e formato. *Sunrise Solo 783* possui células maiores e mais alongadas, além de um maior número de camada de células contendo cristais de oxalato quando comparadas com as células do *Formosa Roxo 45*. No genótipo *Formosa Roxo 45*, nem todas as células da camada cristalífera são providas dos cristais de oxalato. As células do tégmen mostraram diferenças estruturais, possuindo uma camada somente de células alongadas e camadas somente de células achatadas, e somente camadas de células achatadas respectivamente nos

dois genótipos *Sunrise Solo 783* e *Formosa Roxo 45*. As células do endosperma contêm lipídios, camada protéica de aleurona, porém desprovidas de amido tanto no *Sunrise Solo783*, quanto no *Formosa Roxo 45*. As células do eixo embrionário e dos cotilédones em ambos os genótipos contêm grânulos de amido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AROUCHA, E.M.M. Influência do estágio de maturação, armazenamento do fruto e osmocondicionamento na qualidade fisiológica das sementes de mamão (*Carica papaya* L). 2004. 102f. Tese (Doutorado em produção vegetal) Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.
- ESAU, K. Anatomy of seeds plants. New York: 3th ed. John Willey Sons, 1976. 293p.
- FOSTER, L.T. Morphological and cytological studies on *Carica papaya* L. Botanical Gazette, Madison-Wisconsin, v.105, n.1, p.116-126 Madison- Wisconsin, v.105, n.1 p.116-126, 1943.
- GABURRO, N.O.P.; PEREIRA, T.N.S.; PEREIRA, M.G.; DAMASCENO JUNIOR, P.C. Determinação do numero de óvulos e sementes em mamoeiro (*Carica papaya* L.) hermafrodita e feminino In: FRUTIMAMÃO. BOLETIM TECNICO DA III REUNIÃO DE PESQUISA DO FRUTIMAMÃO. Anais... Campos dos Goytacazes: UENF/Caliman, 2007. p. 233-236.
- HOFMEYER, J.D.J. Genetical studies of *Carica papaya* L. South African Department of Agriculture and Science Bulletin. South African, v.35, p.300-304, 1938.
- LYRA G.B.; PONCIANO, N.J.; SOUSA, E.F.; BASTOS LYRA & SUGAWARA, M.T. Modelo de crescimento aplicado ao mamoeiro (*Carica papaya* L.) cultivar

UENF/CALIMAM 01. In: FRUTIMAMÃO. BOLETIM TÉCNICO DA III REUNIÃO DE PESQUISA DO FRUTIMAMÃO. Anais Campos dos Goytacazes: UENF/Caliman, 2007. p. 146-149

MODESTO, Z.M.M; SIQUEIRA,N.J.B. Botânica. São Paulo: E.P.U., 1981. Dividido em 15 capítulos, s/ n° de páginas.

PAOLI, A.A.S. Semente. In: SOUZA, L.A. Anatomia do fruto e semente. Pelotas: UEPG, 2006. p. 128-163.

POUYÚ, S.A.S.; SILVA, R.F.; PEREIRA, M.G.; BRESSAN-SMITH, R.; ALVES, E.; MARQUES, E.R. Nota Preliminar: Utilização de eletromicroscopia de varredura em sementes de mamoeiro *Carica papaya* L.; no momento da germinação. In: FRUTIMAMÃO. BOLETIM TECNICO DA III REUNIÃO DE PESQUISA DO FRUTIMAMÃO. Anais... Campos dos Goytacazes: UENF/Caliman, 2007. p. 263-267.

STOREY, W.B. The primary flower types of papaya and the fruit develop from them. Proceeding of American Society for Horticultural Science. Hawaii, v.35, p.80-82, 1938.

VEGAS, S.A.; TRUJILLO, G.; SANDREA, Y.; MATA, J. Apomixia, polienbrionía somática cigótica in vivo en lenhosa. Interciencia, Caracas, v. 28, n. 12, p. 715 – 718, 2003.

3.2 POTENCIALIDADE DA TÉCNICA DE RAIOS-X PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE MAMOEIRO

¹Submetido em 20/02/2009. Aceito para publicação em 15/05/2009. Seed Science em Technology. Parte da tese de Doutorado do primeiro autor apresentada a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro UENF-Campos dos Goytacazes - Rio de Janeiro-Brasil (soniarmg523@hotmail.com)

SÔNIA APARECIDA DOS SANTOS², Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Av. Alberto Lamego, 2000, 28013-600, Campos dos Goytacazes, RJ/Brazil (soniarmg523@hotmail.com), ROBERTO FERREIRA DA SILVA³, UENF (roberto@uenf.br) MESSIAS GONZAGA PEREIRA⁴, UENF (messias@uenf.br) JOSÉ DA CRUZ MACHADO⁵, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Caixa Postal 3037, 37200-000, Lavras, MG/Brazil (machado@ufla.br), CIBELE FERREIRA MACHADO⁶, Syngenta Seeds Ltda, Rod. BR 452 - km 142, 38405-232, Uberlândia, MG/Brazil (cibele.machado@syngenta.com), FLÁVIO MEIRA BORÉM⁷, UFLA, (flavioborem@ufla.br) VICENTE MARTINS GOMES⁸, UENF, (vanssan523@yahoo.com.br) OLÍVIA ALVINA OLIVEIRA TONETTI⁹, UFLA. (oaotonetti@yahoo.com.br)

RESUMO

O presente trabalho foi proposto com o intuito de verificar a possibilidade de uso da técnica de raios-X para avaliar a qualidade de sementes de mamoeiro e estabelecer um procedimento para condução do teste em sementes dessa espécie. A investigação foi conduzida com as sementes do híbrido UENF/CALIMAN 01 no estágio 5 de maturação.

As sementes foram submetidas aos ensaios radiográficos e classificadas com base no perfil morfológico dos tecidos embrionários e endospermático verificado na radiografia. Em seguida, foi conduzido o teste de germinação das sementes visando detectar possíveis correspondências entre a anatomia das sementes e as respectivas plântulas/sementes resultantes. A exposição das sementes do mamoeiro à radiação a 20kV por 1,5 minutos gerou imagens radiográficas mais nítidas das estruturas internas, possibilitando a discriminação de classes anatômicas das sementes possivelmente associadas à germinação (semente cheia, semente vazia, semente com proporção embrião/cavidade embrionária aparentemente reduzida, semente com endosperma presente e embrião não visível radiograficamente). Verificou-se como resultado desse estudo que a aplicação da técnica dos raios-X, é especialmente promissora na análise da qualidade das sementes do mamoeiro, cuja germinação normalmente se processa em um período relativamente longo, e por manter a integridade das mesmas. Além disso, os resultados desse estudo permitiram também evidenciar a potencialidade da técnica dos raios-X, para a semente do mamoeiro, pois se verificou uma relação entre as informações fornecidas pelo exame radiográfico das suas estruturas e a sua germinação.

Termos para indexação: sementes, radiografia, anatomia, *Carica papaya* L..

ABSTRACT

The objective of this work was to investigate the possibility of using the X-ray technique to evaluate the quality of papaya seeds and to establish a procedure for performing the test on seeds of this species. The work was carried out with seeds of the papaya hybrid UENF/CALIMAN 01 at the stage 5 of maturation. The seeds were subjected to X-ray assays and classified according to morphological profile of the embryonic and endospermic tissues as revealed by the radiography. The germination test on such seeds was run aiming to detect potential relationship between seedlings/seeds and their seed anatomy. Exposure of seeds to radiation at 20 kV for 1.5 minutes produced clear radiographic images of the internal seed morphology; as a result, four anatomic classes possibly related to germination were identified (full seed, empty seed, seed with reduced embryo/ embryonic cavity proportion, and seed with endosperm and non-visible embryo). The partial results of this work provided clues for the connection between the first evaluation of the standard

germination test and the morphological information provided by the X-ray test, indicating the potentiality of the X-ray technique for use in papaya seed testing.

Terms for indexation: seeds, radiography, anatomy, *Carica papaya*.

INTRODUÇÃO

O fruto do mamoeiro *Carica papaya* L. tem se destacado entre as mais importantes frutas tropicais atualmente cultivadas e consumidas nos países tropicais e subtropicais (Chen et al., 1991; Medina 1994). O Brasil é internacionalmente o maior produtor mundial, sendo que da oferta total oferecida, 24%, corresponde à produção brasileira. Dentro do ranking mundial de exportação, o Brasil encontra-se em terceiro lugar, antecedido apenas pelo México e Malásia (Agrianual, 2006).

Devido ao fato de a cultura necessitar de renovação dos pomares de quatro em quatro anos, no máximo, e que produz o ano inteiro, além da importância econômica, é imprescindível considerar a relevância do aspecto social dessa frutífera, pois gera empregos e absorve mão-de-obra durante todo o ano, contribuindo para o mercado de trabalho e para a fixação do homem na terra (Dantas et al., 2002).

Embora possa ser propagado assexuadamente por meio de enxertia, estaquia, ou cultura de tecidos, comercialmente, o mamoeiro é propagado por meio de mudas oriundas de sementes. Entretanto, a propagação do mamoeiro a partir de sementes obtidas da geração F₁, procedimento comumente adotado pelos agricultores, resulta na expressão de fenótipos variados em função da segregação. Tal fato pode ser constatado pela desuniformidade dos frutos em plantios comerciais de mamoeiro, causando sérios prejuízos aos produtores ou acréscimos no custo de produção.

Estudo sobre a germinação de sementes do mamoeiro *Carica papaya* L., apesar dos esforços e avanços tecnológicos nas pesquisas, ainda não foi suficiente para elucidar a desuniformidade e lentidão do processo germinativo da referida frutífera.

Trabalhos visando elucidar o comportamento germinativo das sementes do mamão apresentam resultados contraditórios; alguns pesquisadores têm atribuído a presença de compostos inibidores na exotesta, envelope mucilaginoso que reveste a semente, à germinação lenta e desuniforme (Reyes et al., 1980; Chow e Lin, 1991). Por outro lado, a ocorrência de dormência pós-colheita tem sido apontada como o fator responsável em

decorrência do baixo desempenho germinativo apresentado por sementes de mamoeiro desprovidas de exotesta (Viggiano et al., 2000; Martins et al., 2005); em contrapartida, Tokuhisa et al. (2007) observaram germinação variável entre amostras de sementes de mamoeiro recém-colhidas.

Portanto, em razão do pouco conhecimento que se dispõe sobre as características fisiológicas, morfo anatômicas e genéticas de suas sementes, a propagação do mamoeiro encontra sérias limitações (Foster, 1943; Pouyú et al., 2007). Esse cenário representa um entrave em qualquer programa de maior extensão que necessite periodicamente de sementes de alta qualidade para a propagação da espécie, conservação e utilização com os mais variados interesses. Em decorrência, torna-se necessário a intensificação de pesquisas com o objetivo de se adequar os métodos disponíveis para a avaliação da qualidade de sementes, com ênfase naqueles que envolvem procedimentos padrões, possibilitando a obtenção de resultados comparáveis.

O teste dos raios-X, incluído nesse contexto, tem sido empregado rotineiramente em análise de sementes de diversas espécies vegetais. O teste consiste na análise radiográfica das estruturas internas da semente para a detecção de danos ou anormalidades prejudiciais à germinação. Tal técnica não requer tratamento prévio das sementes e a baixa dose de radiação absorvida por elas durante o teste não causa mutações genéticas e não afeta a germinação, conferindo vantagens de ser esse um método rápido, preciso, de fácil execução e não destrutivo, fornecendo informações adicionais sobre a viabilidade das sementes (Simak e Gustafsson, 1953; Swaminathan e Kamra, 1961; Chavagnat e Le Lezec, 1984; Copeland e McDonald, 1985; Bino et al., 1993). A inclusão do teste de raios-X nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992; ISTA, 1993) tem como objetivo básico a complementação das informações fornecidas pelo teste de germinação; nesse caso, sementes da amostra destinada ao teste de germinação são previamente radiografadas e classificadas de acordo com o perfil anatômico visualizado.

A radiografia das sementes permite a visualização de injúrias mecânicas, danos por insetos e rachaduras ou fraturas decorrentes de fatores adversos da pré e pós-colheita (Simak, 1980; ISTA, 1993; Poulsen et al., 1998); possibilita, ainda, a detecção de anormalidades em embriões, bem como a determinação do estágio de desenvolvimento dos mesmos (Simak e Gustafsson, 1953; Simak, 1980).

Embora o uso do teste de raios-X tenha sido crescente, trazendo benefícios em diferentes etapas da produção e utilização das sementes, incluindo trabalhos de melhoramento genético, relatos sobre a aplicação do teste em sementes de mamoeiro, não

foi encontrado na literatura. Face ao exposto, o presente trabalho foi proposto com o intuito de verificar a possibilidade de uso da técnica de raios-X para avaliar a qualidade de sementes de mamoeiro e estabelecer um procedimento para condução do teste em sementes dessa espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nos Laboratórios de Sementes Florestais da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras/MG, e de Tecnologia de Sementes da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacazes/RJ, com sementes de mamão (*Carica papaya* L.), híbrido UENF/CALIMAN 01 oriundo do cruzamento entre as linhagens dos grupos 'Solo' e 'Formosa', no estágio 5 de maturação (Aroucha, 2004). As sementes foram fornecidas pela Empresa Caliman Agrícola S/A, sendo provenientes de um pomar instalado na Fazenda Macuco, localizada no município de Linhares/ES.

Para a remoção da exotesta, ou sarcotesta, as sementes foram submetidas à fricção manual em peneira metálica sob água corrente. Em seguida, procedeu-se a secagem das sementes em secador de leito fixo, à temperatura de 38°C e vazão de 1,2 m s⁻¹, para obtenção de grau de umidade de 7-8%. O grau de umidade das sementes foi determinado pelo método da estufa a 105±3°C por 24 horas (Brasil, 1992). Os resultados, expressos em porcentagem, foram calculados com base no peso úmido.

Para a análise radiográfica, foram utilizadas 100 sementes distribuídas em uma placa de acrílico com células individualizadas. Durante a exposição, a placa foi sobreposta ao filme radiográfico (Kodak, Min-R 2000, tamanho de 18×24 cm), distante 35 cm da fonte emissora de radiação, usando um aparelho de raios-X Faxitron HP (modelo 43855X) regulado a 20 kV e tempo de exposição de 1,5 minutos. As condições de exposição foram determinadas em ensaios prévios mediante a análise de diferentes combinações voltagem/tempo de exposição, dentre as quais a combinação empregada nesse estudo permitiu uma visualização radiográfica satisfatória das estruturas internas da semente de mamoeiro.

Os filmes radiográficos foram revelados e as imagens radiográficas foto documentadas para avaliação das sementes. As sementes foram divididas em classes de acordo com o perfil morfológico dos tecidos embrionário e endospermático verificados na

radiografia. A terminologia, bem como a classificação das sementes, se basearam naquelas descritas por Simak (1991). As sementes radiografadas e classificadas foram submetidas ao teste de germinação, mantendo-se a identidade das classes, para verificação de possíveis correspondências entre a anatomia das sementes e as respectivas plântulas/sementes resultantes.

O teste de germinação foi conduzido, conforme descrito nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), em câmara de germinação regulada a 20°C/30°C (16h escuro/8h luz). As sementes foram distribuídas em caixas plásticas “gerbox” sobre uma folha de papel mata-borrão previamente umedecida com água destilada 2,5 vezes o seu peso. Os resultados foram expressos em número de sementes germinadas, ou seja, plântulas normais e/ ou protrusão da radícula, sementes com tegumento rompido e sementes não germinadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No âmbito da tecnologia de sementes, o teste de raios-X consiste na análise radiográfica das estruturas internas de sementes, sendo, atualmente, utilizado para várias finalidades. O teste deve ser executado mediante a determinação prévia das condições de exposição das sementes à radiação. A qualidade, ou poder de penetração, dos raios-X é determinada pela quilovoltagem do aparelho de raios-X. O tempo de exposição, juntamente com a miliamperagem fixa do aparelho, regulam a quantidade de raios-X, que determina a densidade radiográfica ou grau de escurecimento. Nesse sentido, diferentes combinações voltagem/tempo de exposição, para a obtenção de imagens radiográficas apuradas de sementes, têm sido adotadas em função da espécie, do aparelho de raios-X e da sensibilidade do filme radiográfico utilizado (Simak, 1980; ISTA, 1993). Na literatura são encontradas referências sobre as condições de exposição das sementes à radiação para diversas espécies vegetais. Com base nessas informações, as sementes de mamoeiro foram submetidas a diferentes combinações de voltagem e tempo de exposição visando estabelecer um procedimento para condução da análise radiográfica de sementes desta espécie.

A exposição das sementes de mamoeiro à radiação a 20kV por 1,5 minutos gerou imagens radiográficas mais nítidas de suas estruturas internas (Figura 1), possibilitando assim a discriminação de classes anatômicas das sementes possivelmente associadas à germinação. As sementes de mamoeiro são albuminosas, com endosperma periférico e

abundante, e bitegmentadas, sendo a testa composta por três tecidos anatomicamente diferentes, a exotesta conhecida por sarcotesta (envelope mucilaginoso), a mesotesta e a endotesta que envolvem o tégmen (Santos et al, 2009). O embrião é do tipo axial reto com eixo hipocótilo-radícula curto, plúmula pouco desenvolvida e dois cotilédones foliáceos. Em trabalhos desenvolvidos por Santos et a (2009) foram observados três cotilédones em algumas sementes de dois diferentes genótipos.

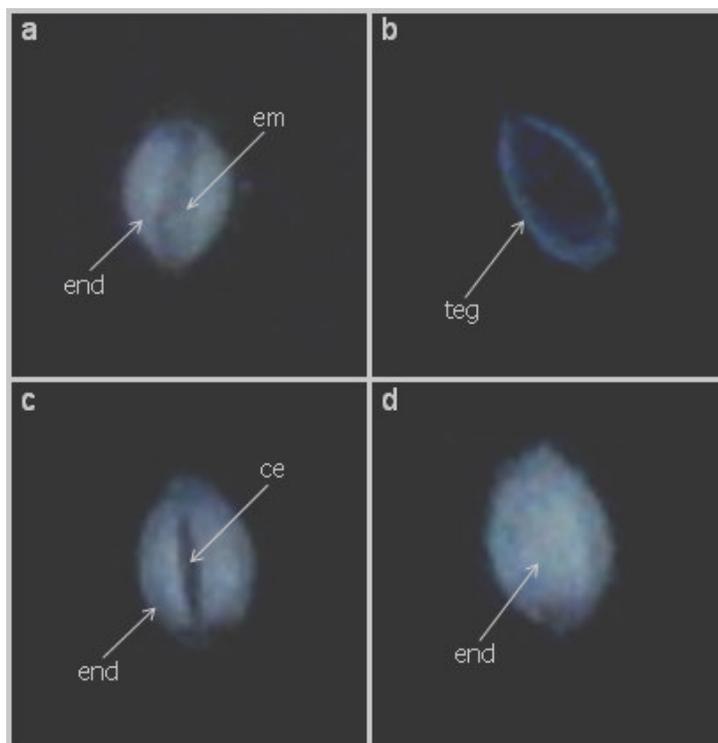


FIGURA 1. Imagens radiográficas de sementes de *Carica papaya* L. (híbrido UENF/CALIMAN 01) classificadas em: (a) semente cheia, (b) semente vazia, (c) semente com proporção embrião/cavidade embrionária aparentemente reduzida e (d) semente com endosperma presente e embrião não visível. em, embrião; end, endosperma; teg, tegumento; ce, cavidade embrionária.

Com base no perfil morfológico dos tecidos embrionários/endospermático verificados na radiografia, as sementes de mamoeiro foram classificadas em semente cheia (semente intacta, completa e com as estruturas desenvolvidas; semente vazia com tecidos embrionários e endospermático rudimentares ou ausentes; semente com proporção embrião/cavidade embrionária aparentemente reduzida, ou seja, cavidade, delimitada pelo endosperma, parcialmente preenchida pelo embrião ou embrião ausente; e semente com endosperma presente e embrião não visível radiograficamente (Figura 1). Vale salientar

que as sementes evidenciando apenas o endosperma (Figura 1d) não necessariamente representam sementes anormais. A ausência aparente do embrião em tais sementes pode ser função da disposição das sementes durante a radiografia neste caso, com a face lateral/sentido longitudinal, ao contrário das sementes classificadas como cheias (Figura 1a) cuja imagem radiográfica corresponde à face ventral ou dorsal (longitudinal) das mesmas. A frequência observada dos diferentes padrões anatômicos das sementes identificados no exame radiográfico é apresentada na Tabela 1.

TABELA 1. Número de sementes de *Carica papaya* L. (híbrido UENF/CALIMAN 01) verificado nas classes determinadas na análise radiográfica (sementes cheias [SC], sementes vazias [SV], sementes com proporção embrião/cavidade embrionária aparentemente reduzida [E/CE-R] e sementes com embrião não visível radiograficamente [ENV]) e respectivas categorias identificadas na primeira contagem do teste de germinação.

Categoria de germinação	Classe radiográfica				Total
	SC	SV	E/CE-R	ENV	
Sementes germinadas (plântulas normais)	10	00	01	02	13
Sementes germinadas (protrusão da radícula)	40	00	00	01	41
Sementes com tegumento rompido	03	00	20	00	23
Sementes não germinadas	07	01	10	05	23
Total	60	01	31	07	100

O conjunto de tonalidades claras e escuras observado em imagens radiográficas de sementes é definido em função do nível de absorção dos raios-X em regiões distintas nas sementes que é determinado pela espessura, densidade e composição dos tecidos (Simak, 1980; ISTA, 1993). Assim, sementes de mamoeiro destituídas de tecidos embrionários e endospermático, por não apresentarem resistência à passagem dos raios-X, fornecem imagens radio lúcidas; escuras, como mostrado na Figura 1b, onde se verifica apenas o tegumento da semente. Por outro lado, sementes cheias apresentam essa resistência e, portanto, fornecem imagens radiopacas; claras como se observa na Figura 1a.

Conforme mencionado anteriormente, a radiografia das sementes pode auxiliar na avaliação da viabilidade das mesmas (Swaminathan e Kamra, 1961; Copeland e McDonald, 1985); para tanto, torna-se necessário o estabelecimento de relações entre as estruturas internas da semente e sua germinação. Nesse sentido, as sementes de mamoeiro radiografadas e classificadas, de acordo com o perfil morfológico visualizado, foram

submetidas ao teste de germinação para detectar possíveis correspondências entre a anatomia das sementes e as respectivas plântulas/sementes resultantes.

As categorias adotadas para avaliação do teste de germinação foram: sementes germinadas, sementes com tegumento rompido e sementes não germinadas (Figura 2). As sementes germinadas foram ainda divididas em classes quanto ao estágio de germinação em, protrusão da radícula e plântula normal com estruturas essenciais completas, desenvolvidas, proporcionais e sadias.

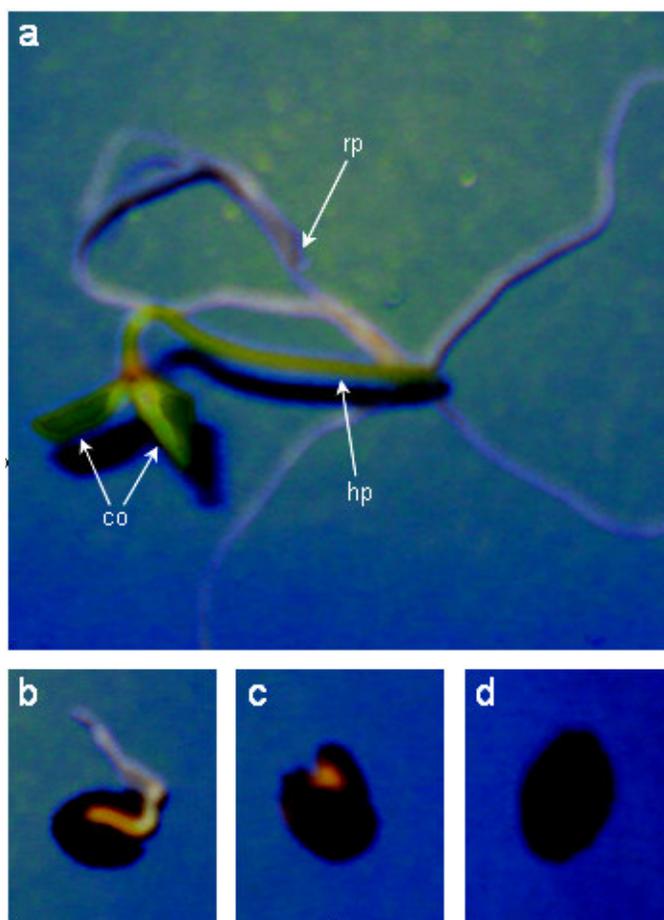


FIGURA 2. Categorias de germinação identificadas na primeira contagem do teste de germinação em sementes de *Carica papaya* L. (híbrido UENF/CALIMAN 01): (a) plântula normal, (b) protrusão da radícula (considerada semente germinada), (c) semente com tegumento rompido e (d) semente não germinada. rp, raiz primária; co, cotilédones; hp, hipocótilo.

A avaliação do teste de germinação permitiu estabelecer relações entre as categorias de germinação identificadas e os respectivos padrões anatômicos das sementes,

tal como determinado no exame radiográfico (Tabela 1). Assim, 83,3% das sementes pertencentes à classe de tecidos embrionários/ endospermático morfologicamente normais isto é; sementes cheias, pela análise radiográfica, germinaram, originando 20% de plântulas comprovadamente normais. Por sua vez, a semente vazia detectada na amostra submetida à análise radiográfica permaneceu intacta, isto é; a semente não germinou.

Com relação às sementes com proporção embrião/cavidade embrionária aparentemente reduzida, em que a cavidade delimitada pelo endosperma tenha sido parcialmente preenchida pelo embrião ou com embrião ausente, apenas uma pertencente à referida classe radiográfica, equivalente a 3,2%, resultou em plântula normal, ao passo que as demais; 96,8%, foram computadas como sementes não germinadas ou com tegumento rompido na primeira avaliação do teste de germinação (Tabela 1).

Resultados semelhantes foram obtidos para sementes de aroeira-branca (*Lithraea molleoides*) em que o embrião não tenha apresentado um bom contato com a superfície interna do tegumento em toda sua extensão, denominadas sementes com proporção embrião/cavidade embrionária inferior a 100% pelo teste de raios-X; neste estudo, o teste de germinação revelou a inviabilidade de todas as sementes pertencentes à classe em questão (Machado e Cicero, 2003).

Por sua vez, as sementes com endosperma presente e embrião não visível na radiografia resultaram em sementes germinadas (25% plântulas normais; 12,5% protrusão radicular) e não germinadas (62,5%). Conforme mencionado anteriormente, a imagem radiográfica de tais sementes possivelmente corresponde à face lateral das mesmas, daí a ausência aparente do embrião. Neste caso particular, a viabilidade das sementes inferida apenas por meio do exame radiográfico pode ser questionável.

Dentre as espécies em que se verificou correspondência entre a anatomia das sementes radiografadas e a germinação das mesmas, destacam-se as sementes de tomate (Van der Burg et al., 1994), milho (Cicero et al., 1998; Carvalho et al., 1999; Obando Flor, 2000), *Cupressus sempervirens* - cipreste italiano (Battisti et al., 2000), *Peltophorum dubium* - canafístula (Oliveira et al., 2003), *Lithraea molleoides* - aroeira-branca (Machado e Cicero, 2003), *Eremanthus erythropappus* - candeia (Tonetti et al., 2006), *Eugenia pleurantha* (Masetto et al., 2007) e *Tecoma stans* (Socolowski e Cicero, 2008), demonstrando ser esta uma técnica eficiente para predeterminar a germinação de sementes. A morfologia de embriões de maçã - *Malus domestica*, em contrapartida, não se relacionou com a germinação (Bouvier et al., 1992); portanto, sementes anatomicamente 'perfeitas', conforme verificado no teste de raios-X, podem apresentar desempenho ineficiente durante

a germinação. Tal fato pode ser verificado em decorrência de condições ambientais desfavoráveis à germinação, da presença de sementes com infecções latentes, sementes mortas por causas naturais, em estádios avançados de deterioração, ou submetidas a um armazenamento inadequado (Swaminathan e Kamra, 1961; Van der Burg et al., 1994).

Os resultados do presente trabalho evidenciaram a potencialidade da técnica dos raios-X para uso em análise de sementes de mamoeiro, tendo em vista uma correspondência satisfatória entre as informações fornecidas pela análise radiográfica e a avaliação do teste de germinação em tais sementes. Assim sendo, estes resultados somados aos acervos já existentes de estudos sobre os métodos de avaliação da qualidade de sementes do mamoeiro, indicam que o teste de raios-X tem potencial para ajudar no descarte das sementes do mamoeiro com baixo 'potencial anatômico', visando assegurar um bom desempenho germinativo dos lotes, principalmente pela eficácia na rapidez sem danificar as sementes.

CONCLUSÕES

A técnica de raios-X permite visualização satisfatória das estruturas internas das sementes de mamoeiro, possibilitando a discriminação de classes anatômicas das sementes possivelmente associadas à germinação. As condições de exposição à radiação 20 kV/1,5 minutos geram imagens radiográficas mais apuradas das sementes.

A aplicação desta técnica é especialmente promissora na análise da qualidade de sementes de mamoeiro cuja germinação normalmente se processa em um período relativamente longo, assim como também por permitir a integridade das sementes.

As classes anatômicas constatadas pelo teste de raios-X, indicaram que as sementes cheias, ou seja, aquelas que incluem as sementes cuja análise radiográfica permitiu visualizar todas as estruturas corresponderam a 83% das sementes germinadas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIANUAL 2006: anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria & comércio, 2005. 536p.
- AROUCHA, E.M.M.; SILVA, R.F.; VIEIRA, R.F.; VIANA, A.P.; FREITAS, S.P. Influência do estágio de maturação dos frutos e período de armazenamento das sementes no vigor das sementes de mamão dos grupos Solo e Formosa. In: Reunião de Pesquisa do Frutimamão, 2, 2004. Anais... Campos de Goytacazes: UENF, 2004. p.71-75.
- BATTISTI, A.; CANTINI, R.; FECCI, E.; FRIGIMELICA, G.; GUIDO, M.; ROQUES, A. Detection and evaluation of seed damage of cypress, *Cupressus sempervirens* L., in Italy. Zürich, Seed Science and Technology, v.28, n.3, p.729-738, 2000.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Seeds: physiology of development and germination, 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.
- BINO, R.J.; AARTSE, J.W.; VAN DER BURG, W.J. Non-destructive X-ray analysis of *Arabidopsis* embryo mutants. Seed Science Research, Wallingford v.3, n.3, p.167-170, 1993.
- BOUVIER, L.; CHAVAGNAT, A.; ZHANG, Y.X.; LESPINASSE, Y. Using radiography to attempt to screen for haploid embryos in apple seeds. Scientia Horticulturae, Amsterdam v.52, n.3, p.215-221, 1992.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes. Brasília: CLAV; DNDV; SNAD; MA, 1992. 365p.
- CARVALHO, M.L.M. de; VAN AELST, A.C.; VAN ECK, J.W.; HOEKSTRA, F.A. Pre-harvest stress cracks in maize (*Zea mays* L.) kernels as characterized by visual, X-ray and low temperature scanning electron microscopical analysis: effect on kernel quality. Seed Science Research, Wallingford v.9, n.3, p.227-236, 1999.
- CHAVAGNAT, A.; LE LEZEC, M. Détermination de la valeur culturale des semences par la radiographie industrielle aux rayons X. Application aux pépins de pommier (*Malus pumila* Mill.). Agronomie, Les Ulis v.5, n.2, p.187-192, 1985.
- CHEN, M. H., CHEN, C. C., WANG, D. N., CHEN, F. C. (1991) Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of *Carica papaya* x *Carica cauliflora* cultured in vitro. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v.69, n.9, p. 1913-1918.

- CHOW, Y.J.; LIN, C.H. p-Hydroxibenzoic acid the major phenolic germination inhibitor of papaya seed. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.19, p167-174, 1991.
- CICERO, S.M.; VAN DER HEIJDEN, G.W.A.M; VAN DER BURG, W.J.; BINO, R.J. Evaluation of mechanical damage in seeds of maize (*Zea mays* L.) by X-ray and digital imaging. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.26, n.3, p.603-612, 1998.
- COPELAND, L.O.; McDONALD, M.B. Principles of seed science and technology. 2.ed. New York: Macmillan, 1985. 321p.
- DANTAS, J. L. L.; DANTAS, A. C. V. L.; LIMA, J. F. (2002) Mamoeiro. *In:Melhoramento de fruteiras tropicais*. 1 ed. Viçosa – MG: UFV, p. 309-349.
- FOSTER, L.T. Morphological and cytological studies on *Carica papaya*. *Botanical Gazette*, Madison, v.105, p.116-126, 1943.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION – ISTA. International rules for seed testing. *Seed Science and Technology*, Zurich, v.21, 363p. 1993. Supplement.
- MACHADO, C. F. ; CICERO, S. M. . Aroeira-branca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. - Anacardiaceae) seed quality evaluation by the X-ray test. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 60, n. 2, p. 393-397, 2003.
- MARTINS, G.N.; SIILVA, R.F.; OLIVEIRA, A.C.S.; POSSE, S.C.P. Superação da dormência em sementes de mamão. In: PAPAYA BRASIL: MERCADO E INOVAÇÕES TECNOLÓGICAS PARA O MAMÃO, 1., 2005. Anais...Vitória: INCAPER, 2005. p.241-243.
- MASETTO, T.E.; SILVA, E.A.A.; FARIA, J.M.R. Avaliação da qualidade de sementes de *Eugenia pleurantha* (Myrtaceae) pelo teste de raios-X. *Revista Brasileira de Sementes*, Lavras v.29, n.3, p.170-174, 2007.
- MEDINA, V. M.; CORDEIRO, Z. J. M. (1994) *Mamão para exportação: aspectos técnicos da produção*. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 52p.
- OBANDO FLOR, E.P. Danos internos de secagem avaliados pelo teste de raios-X e seus efeitos na qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.) armazenadas. Lavras, 2000. 62p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras 2000.
- OLIVEIRA, L.M.; CARVALHO, M.L.M.; DAVIDE, A.C. Utilização do teste de raios-X na avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert). *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.25, n.1, p.116-120, 2003.

- POULSEN, K.M.; PARRATT, M.J.; GOSLING, P.G. (Ed.) Tropical and sub-tropical tree and shrub seed handbook. Zürich: International Seed Testing Association, 1998. 204p.
- POUYÚ, S.A.S.; SILVA, R.F. DA; PEREIRA, M.G.; SMITH, R.E.B.; BORÉM, F.M.; ALVES, E.; MARQUES, E.R. Nota Preliminar: Utilização de eletromicroscopia de varredura em sementes de mamoeiro *Carica papaya* L. no momento da germinação. In: III Reunião de Pesquisa do FRUTIMAMÃO, 2007, Campos dos Goytacazes - RJ. FRUTIMAMÃO: Boletim Técnico da III Reunião de Pesquisa do FRUTIMAMÃO. Campos dos Goytacazes - RJ: UENF, 2007. v.1, p.263-266.
- REYES, M.N.; PÉREZ, A.; CUEVAS, J. Detecting endogenous growth regulators on the sarcotesta, sclerotesta, endosperm and embryo by paper chromatography on fresh and old seeds of two Papaya's varieties. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico, v.64, n.2, p.167-172, 1980.
- SANTOS, S. A. dos; SILVA, R.F.; PEREIRA, M.G.; ALVES, E.; MACHADO, J.C. BORÉM, F.M.; GUIMARÃES, R.M.; MARQUES, E.R. Estudos morfo anatômicos de sementes de dois genótipos de mamão *Carica papaya* L. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v31, n2, p 116-122. 2009.
- SIMAK, M. Testing of forest tree and shrub seeds by X-radiography. In: GORDON, A.G.; GOSLING, P.G.; WANG, B.S.P. (Ed.) Tree and shrub seed handbook. Zürich: International Seed Testing Association, 1991. p.14-1-14-28.
- SIMAK, M. X-Radiography in research and testing of forest tree seeds. Report SUAS Department of Silviculture, Umea-Sweden n.3, p.1-34, 1980.
- SIMAK, M.; GUSTAFSSON, Å. X-Ray photography and sensitivity in forest tree species. Hereditas, v.39, p.458-468, 1953.
- SOCOLOWSKI, F.; CICERO, S.M. Caracterização morfológica de embriões por imagens de raios-X e relação com a massa e a qualidade fisiológica de sementes de *Tecoma stans* L. Juss. ex Kunth (Bignoniaceae). Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v.30, n.2, p. -, 2008.
- SOUZA JUNIOR, C. L.; VENCovsky, R. Covariância entre parentes na presença da interação genótipos x ambientes. In: SIMPÓSIO DE ESTATÍSTICA APLICADA A EXPERIMENTAÇÃO AGRONÔMICA, 3., Resumos... Lavras: ESAL, 1989. p. 50-51.
- SWAMINATHAN, M.S.; KAMRA, S.K. X-Ray analysis of the anatomy and viability of seeds of some economic plants. Indian Journal of Genetics & Plant Breeding, New Delhi v.21, n.2, p.129-135, 1961.

- TOKUHISA, D.; DIAS, D.C.F.S.; ALVARENGA, E.M.; HILST, P.C.; DEMUNER, A.J. Compostos fenólicos inibidores da germinação em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v.29, n.3, p.180-188, 2007.
- TONETTI, O.A.O.; DAVIDE, A.C.; SILVA, E.A.A. Qualidade física e fisiológica de sementes de *Eremanthus erythropappus* (DC.) Mac. Leish. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v.28, n.1, p.114-121, 2006.
- VAN DER BURG, W.J.; AARTSE, J.W.; VAN ZWOL, R.A.; BINO, R.J. Predicting tomato seedling morphology by X-ray analysis of seeds. Journal of the American Society for Horticultural Science, Virginia, v.119, n.2, p.258-263, 1994.
- VIGGIANO, J.R.; SILVA, R.F.; VIEIRA, H.D. Ocorrência de dormência em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). Sementes Online, Pelotas, v.1, n.1, p.6-10, 2000.

3.3 GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE MAMOEIRO: INVESTIGAÇÃO PRELIMINAR DO EFEITO DE DIFERENTES COMPONENTES ANATÔMICOS

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo investigar a influência dos tecidos constituintes da semente de mamoeiro na germinação, visando elucidar o processo germinativo lento e irregular da mesma. A investigação foi conduzida com sementes de dois genótipos, *Sunrise Solo 783* (grupo 'Solo') e *Formosa Roxo 45* (grupo 'Formosa'), no estágio 5 de maturação. Sementes intactas (exotesta removida), sementes desprovidas de tegumento, contendo apenas o endosperma e os cotilédones, e sementes desprovidas do tegumento e do endosperma, contendo apenas os cotilédones e o eixo embrionário, foram submetidas à germinação. Pelo teste de germinação, verificou-se a inviabilidade de germinação das sementes desprovidas de tegumento, ao passo que, tanto as sementes intactas quanto as sementes contendo apenas os cotilédones com o eixo embrionário apresentaram porcentagens de germinação entre 96 e 100%, não diferindo estatisticamente entre si. Considerando que o endosperma de sementes maduras de mamoeiro é composto pelo endosperma de armazenamento e pela camada (externa) de aleurona, é possível que durante a remoção do tegumento, a camada de aleurona tenha sido (parcialmente) removida ou danificada, comprometendo assim a produção de enzimas hidrolíticas envolvidas no enfraquecimento da parede celular do endosperma de armazenamento durante a germinação. Os resultados permitiram concluir que: (1) o tegumento, desprovido

da exotesta, não interfere na germinação de sementes de mamoeiro; (2) o endosperma de sementes de mamoeiro pode atuar como uma barreira física à protrusão da radícula.

Termos para indexação: sementes, germinação, anatomia, *Carica papaya* L..

ABSTRACT

The objective of the present work was to investigate the influence of papaya seed components in the germination process. The assay was carried out using seeds of two papaya genotypes, *Sunrise Solo 783* ('Solo' group) and *Formosa Roxo 45* ('Formosa' group), at stage 5 of maturation. Intact seeds (exotesta removed), seeds without the seed coat (with only endosperm and cotyledons) and excised embryos (without both seed coat and endosperm) were germinated. The germination test revealed that seeds without the seed coat were all nonviable, whereas intact seeds and excised embryos exhibited 96-100% germination percentages, with no significant difference between them. Considering that the endosperm of papaya mature seeds is composed by the starchy endosperm and the aleurone layer (the outermost endosperm cell layer), it is possible to suggest that while the seed coat was removed, the aleurone layer might be damaged and/or partially removed as well, compromising the hydrolase production that promotes the endosperm cell wall weakening during the germination process. It was possible to conclude that: (1) the seed coat (without the exotesta) of papaya seeds does not influence the germination process; (2) the endosperm may act as a physical barrier to the radicle protrusion.

Terms for indexation: seeds, germination, anatomy, *Carica papaya*.

INTRODUÇÃO

O fruto do mamoeiro, *Carica papaya* L., tem se destacado entre as mais importantes frutas tropicais atualmente cultivadas e consumidas nos países

tropicais e subtropicais (Chen et al., 1991; Medina, 1995). O Brasil é o maior produtor mundial, sendo 24% da oferta total correspondente à produção brasileira. De acordo com Agriannual (2006), o Brasil ocupa o terceiro lugar no ranking mundial de exportação, sendo superado apenas pelo México e Malásia.

Além de sua elevada expressão econômica, em função da necessidade de renovação dos pomares a cada quatro anos e produção durante o ano inteiro, a cultura do mamoeiro tem grande importância social, pois gera empregos e absorve mão-de-obra durante todo o ano, contribuindo para o mercado de trabalho e para a fixação do homem na terra (Dantas et al., 2002).

Embora possa ser propagado assexuadamente por meio de enxertia, estaquia, ou cultura de tecidos, comercialmente, o mamoeiro é propagado por meio de mudas oriundas de sementes. Entretanto, a desuniformidade e lentidão do processo germinativo das sementes, continuam sendo um grande problema para os produtores.

O foco principal das pesquisas sobre dormência-germinação da semente do mamoeiro está embasado em sua grande totalidade na estrutura exotesta ou sarcotesta. São vastas as pesquisas com fito hormônios e a presença de compostos fenólicos nessa referida estrutura. Entretanto, as informações obtidas ainda não esclareceram concisamente o problema, visto que os resultados obtidos são contraditórios. (Lange, 1961; Gherardi & Valio, 1976; Reyes et al., 1980; Yahiro & Oryoji, 1980; Chow & Lin, 1991; Viggiano et al., 2000).

Outras pesquisas também que são bastante exploradas na tentativa de esclarecer este problema no mamoeiro são aquelas que objetivam identificar métodos eficazes na superação da dormência, mas que, não elucidam com clareza os aspectos comumente verificados em relação à irregularidade da germinação.

A literatura reporta que a chave para elucidar os problemas de dormência-germinação das sementes é pesquisando todas as estruturas que recobrem o embrião; o tegumento que é um tecido totalmente maternal, e o tecido triploide; o endosperma, que é na sua grande totalidade também um tecido materno (Brooks & Michell, 1988; Debeaujon et al., 2000; Wu et al., 2000; Petruzzelli et al., 2003; Muller et al., 2006; Penfield et al., 2005; Pouyú et al., 2007; Santos et al., 2008, 2009).

O endosperma de semente de *Carica papaya* é rico em lipídios e camadas de aleurona, ao passo que os cotilédones com o eixo embrionário contêm substancialmente grânulo de amido, e menos lipídeos ao se comparar com o endosperma (Santos et al., 2009). Além de ser um tecido de reserva, o endosperma é considerado o principal foco para o entendimento do controle da germinação de tomate e tabaco, pois secreta enzimas que amolecem a parede celular que funciona como uma barreira para a protrusão da radícula (Bewley, 1977b). Penfield et al. (2006) acrescentam que para entender a germinação de sementes de *Arabidopsis* e outras sementes de angiosperma é vital pesquisar o endosperma, cujas substâncias de reserva, como o lipídeo é o combustível indispensável no estabelecimento da nova plântula através do processo via gliconeogênese (Lenhinger, 2005; Penfield et al., 2006).

Tendo em vista que a propagação comercial do mamoeiro é basicamente seminífera, sendo o processo germinativo lento e irregular, e em função do pouco conhecimento que se dispõe sobre as características fisiológicas e morfo anatômicas de suas sementes, o presente trabalho foi proposto com o intuito de investigar a influência dos tecidos constituintes da semente de mamoeiro na germinação, visando elucidar o comportamento germinativo da mesma.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitotecnia (LFIT) dos Setores de Tecnologia de Sementes e de Cultura de Tecidos e no Laboratório de Bioquímica de Sementes do Centro de Biociências e Biotecnologia (CBB), da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacazes/RJ.

Genótipos utilizados. Foram utilizadas sementes de mamão (*Carica papaya* L.) provenientes de frutos de plantas com flores hermafroditas das linhagens dos grupos 'Solo' (*Sunrise Solo 783*) e 'Formosa' (*Formosa Roxo 45*), procedentes do Banco de Germoplasma da UENF, Campos dos Goytacazes/RJ, em parceria com a Empresa Caliman Agrícola S/A, Linhares/ES. Foram utilizados frutos no estágio 5 de maturação, conforme Aroucha (2004). Para a remoção da exotesta

(sarcotesta), as sementes foram submetidas à fricção manual em peneira metálica sob água corrente. Em seguida, procedeu-se a secagem das sementes em secador de leito fixo, à temperatura de 38°C e vazão de 1,2 m^{-s}, para obtenção de grau de umidade de 7-8% (base úmida). O teor de água das sementes foi determinado pelo método da estufa a 105±3°C por 24 horas (Brasil, 1992). Dissecação das sementes e avaliação da germinação. A separação das estruturas avaliadas foi efetuada manualmente, sob condições assépticas (em câmara de fluxo laminar), utilizando-se instrumentos cirúrgicos esterilizados em estufa a 90°C/2 horas. As sementes foram divididas em classes quanto aos tecidos presentes, ou removidos, em: (i) semente intacta com a exotesta ausente, (ii) semente desprovida de tegumento, contendo o endosperma, os cotilédones com o eixo embrionário e (iii) semente desprovida do tegumento, do endosperma contendo apenas os cotilédones com o eixo embrionário. (Figura 1A-C). Para o teste de germinação, foram empregadas 3 repetições de 25 sementes, por genótipo, previamente desinfestadas por imersão em solução de hipoclorito de sódio 0,5% , acrescida de Tween 20 ;1 gota/100 mL por 3 minutos. As sementes foram distribuídas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro esterilizadas utilizando 25 sementes/placa, sobre uma folha de papel mata-borrão previamente esterilizada, em estufa a 90°C/2 horas, e umedecida com água destilada esterilizada 2,5 vezes o seu peso sem hidratação (Menezes et al., 1993). A esterilização das placas de Petri e água destilada foi realizada por autoclavagem a 121°C por 15 minutos. Após distribuição das sementes, as placas foram vedadas com Parafilm[®] M ,American National Can, Chicago, IL, sob condições assépticas. O teste de germinação foi conduzido, conforme descrito nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), em câmara de germinação tipo BOD regulada a 20°C/30°C (16h escuro/8h luz), sendo os resultados expressos em porcentagem de sementes germinadas. Análise estatística. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 × 3; 2 genótipos e 3 classes de sementes, com três repetições cada. A comparação das médias foi realizada pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado do teste de germinação das três classes de sementes do mamoeiro foi avaliado com o intuito de determinar a influência das três estruturas constituintes da semente na germinação e, não apenas a exotesta. Em decorrência, as sementes consideradas intactas no presente trabalho não apresentaram o tecido em questão.



Figura 1. Aspectos gerais de *Carica papaya* L.: (A) semente intacta (exotesta ausente), (B) semente desprovida de tegumento (embrião e endosperma), (C) embrião excisado (cotilédones e eixo embrionário), (D-F) germinação (alongamento do eixo embrionário), onde a seta em (F) indica início da formação das raízes secundárias, (G-I) plântulas, onde as setas indicam raiz primária (G), raiz secundária (H) e cotilédones expandidos. Legendas: ex, eixo hipocótilo-radícula; ct, cotilédones; pr, protrusão da radícula.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, para ambos os genótipos avaliados, verifica-se que as sementes intactas e as sementes, portanto os cotilédones com o eixo embrionário excisados apresentaram porcentagens de germinação de 96-100%, não diferindo estatisticamente entre si ($p < 0,05$). Por outro lado, o teste revelou a inviabilidade em germinar das sementes desprovidas de tegumento, contendo o endosperma e os cotilédones com o eixo embrionário.

Tabela 1. Germinação (%) de sementes intactas, desprovidas do tegumento, contendo o endosperma, os cotilédones e o eixo embrionário, desprovidas do tegumento, do endosperma, contendo os cotilédones com o eixo embrionário do mamoeiro⁽¹⁾.

Classe	Genótipo	
	Sunrise Solo 783	Formosa Roxo 45
Semente intacta	97,33 Aa	96 Aa
Semente desprovida do tegumento	0 Ab	0 Ab
Semente contendo apenas os cotilédones e o eixo embrionário	100 Aa	100 Aa
CV (%)	5,08	4,36

⁽¹⁾Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

É importante salientar que, embora as sementes intactas e sementes contendo apenas os cotilédones com o eixo embrionário tenham apresentado desempenho germinativo semelhante, observações efetuadas no decorrer do teste de germinação permitiram constatar a ocorrência de plântulas com tamanho relativamente reduzido, o que também foi observado por Ritchie et al. (2000) em sementes de cevada (*Hordeum vulgare*). Tal fato evidencia a importância do tecido endospermático, fonte adicional de energia, em sementes de mamoeiro no crescimento e estabelecimento das plântulas, principalmente sob condições de campo, através da via gliconeogênese (Leningher, 2002).

Os resultados constataram que a ausência da exotesta não interferiu na germinação das sementes do mamoeiro, entretanto a retirada do restante do tegumento; mesotesta e endotesta e tégmen, classificação anatômica, segundo

Santos et al (2009) impediu o processo germinativo, quando permaneceu o endosperma, os cotilédones e o eixo embrionário. Processo, controlando a velocidade de reidratação da semente e, assim, evitando/reduzindo possíveis danos causados durante a embebição (Popinigis, 1985). Durante a fase inicial do processo germinativo ocorre a reorganização dos constituintes celulares; as membranas restabelecem a permeabilidade seletiva e evitam a exsudação excessiva de eletrólitos (Larson, 1968; Simon & Raja-Harun, 1972; Adbul-Baki, 1980). A eficiência de reorganização dos constituintes celulares depende da velocidade de hidratação e das características intrínsecas da semente, tais como, permeabilidade do tegumento, composição química, teor de água inicial e qualidade fisiológica (Vertucci, 1989). Desse modo, uma rápida absorção de água pelas sementes pode ocasionar danos às membranas em reorganização, intensificando a liberação de solutos e, conseqüentemente, prejudicando a germinação. Tal fato é agravado ainda mais sob condições de campo, resultando na redução da emergência das plântulas, tendo em vista que a velocidade de reorganização do sistema de membranas reflete o vigor das sementes (Tilden & West, 1985).

É provável que, no presente trabalho, os embriões excisados tenham absorvido água mais rapidamente; no entanto, o teste de germinação é conduzido sob condições ótimas, daí o bom desempenho germinativo apresentado por tais embriões.

Em função do desempenho satisfatório de sementes intactas e embriões excisados, e da inviabilidade de sementes desprovidas de tegumento, pode-se afirmar que o tegumento (com a exotesta removida) não interfere na germinação de sementes de mamoeiro, não sendo, portanto, um fator limitante do processo germinativo.

Segundo Santos et al. (2009), o embrião de sementes maduras de mamoeiro é envolvido, em toda a sua extensão, pelo endosperma. O tecido endospermático é composto pelo endosperma de armazenamento (abundante) e pela camada de aleurona. Em tais sementes, polissacarídeos do tipo hemicelulose são armazenados, como fonte adicional de energia para o desenvolvimento da plântula, na parede das células do endosperma de reserva; como conseqüência, a parede celular desse tecido é espessa e rija, atuando como uma barreira física à protrusão da radícula. A camada de aleurona, por sua vez, envolve o endosperma

de armazenamento, sendo constituída de células, metabolicamente ativas, ricas em grãos de aleurona e corpos lipídicos. Durante a fase de embebição das sementes, o ácido giberélico produzido no embrião é transportado para a camada de aleurona para a indução da síntese, dentre outras enzimas, das hidrolases da parede celular do tecido adjacente (endosperma de armazenamento), permitindo, assim, a protrusão da radícula ou emergência do embrião.

Em função da conformação das células do endosperma de sementes de muitas espécies vegetais, o enfraquecimento desse tecido ocorre normalmente após a protrusão da radícula. Em tais sementes, a parede das células do endosperma micropilar (que envolve a radícula) é fina e, portanto não impede a emergência do eixo embrionário, ao passo que a parede das células do endosperma lateral (que envolve os cotilédones) é espessa e requer atividade das enzimas hidrolíticas para que a emergência do embrião (expansão dos cotilédones) seja concluída (Gong et al., 2005).

Alternativamente, sementes de algumas espécies, tais como as de tomate (*Lycopersicon esculentum*), tabaco (*Nicotiana tabacum*) e *Datura ferox*, possuem a parede celular do endosperma micropilar espessa e, portanto, o enfraquecimento desse tecido é um pré-requisito para a protrusão da radícula (Groot & Karssen, 1987; Leubner-Metzger et al., 1996; Leubner-Metzger, 2002; Gong et al., 2005).

Nesse contexto, durante a remoção do tegumento das sementes de mamoeiro, no presente trabalho, a camada de aleurona pode ter sido, total ou parcialmente, removida ou danificada, comprometendo a produção de enzimas hidrolíticas envolvidas no enfraquecimento da parede das células do endosperma de armazenamento, por ocasião da embebição, e, por conseguinte, a germinação das sementes.

Vale salientar que a interpretação do teste de germinação foi efetuada com base nos critérios estabelecidos nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), em que são computadas apenas as plântulas normais. Entretanto, no transcorrer do teste, verificou-se protrusão de radícula em torno de 17% das sementes da linhagem *Sunrise Solo 783* (grupo 'Solo'), porém, culminou com a formação de plântulas anormais ou mortas.

Neste trabalho ficou evidente, portanto, que o endosperma exerce influência determinante sobre o processo germinativo das sementes de mamoeiro,

visto que na ausência do tegumento e possivelmente da camada de aleurona do endosperma, as sementes não foram capazes de germinar ou produzir plântulas normais. Contudo, investigações adicionais são necessárias para uma inferência conclusiva sobre a influência do endosperma na germinação, bem como a participação conjunta e coordenada dos tecidos constituintes da semente neste processo.

CONCLUSÕES

O tegumento, com a exotesta ausente, não interfere na germinação de sementes de mamoeiro.

O endosperma de sementes de mamoeiro pode atuar como uma barreira física à protrusão da radícula. O enfraquecimento da parede celular desse tecido, durante a germinação, possivelmente depende da atividade de enzimas hidrolíticas produzidas na camada de aleurona.

REFERÊNCIAS

- Abdul-Baki, A.A. (1980) Biochemical aspects of seed vigour. HortScience, v.15, p.765-771.
- Agriannual (2006): anuário da agricultura brasileira. Mamão. São Paulo: FNP, Consultoria e Agroinformativos, 2006. p.349-356.
- Aroucha, E.M.M. (2004). Influência do estágio de maturação, da época de colheita e repouso dos frutos e do osmocondicionamento na qualidade fisiológica de sementes de mamão (*Carica papaya* L.). 2004. 102p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes.

- Brasil. (1992). Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes. Brasília: CLAV; DNDV; SNAD; MA, 365p.
- Brooks, C.A. And Mitchell, C.A. (1988). Effect of salicyhydroxamic acid on endosperm strength and embryo growth of *Lactuca sativa* cv Waldmann's Green seeds. *Plant Physiology*, 86, 826-829.
- Chow, Y.J.; Lin, C.H. (1991) p-Hydroxybenzoic acid the major phenolic germination inhibitor of papaya seed. *Seed Science and Technology*, v.19, p.167-174.
- Dantas, J. L. L.; Dantas, A. C. V. L.; Lima, J. F. (2002). Mamoeiro. *In: Melhoria de fruteiras tropicais*. 1 ed. Viçosa – MG: UFV, pp. 309-349.
- Debeaujon I, Le´On-Kloosterziel Km, Koornneef M. (2000). Influence of the testa on seed dormancy, germination, and longevity in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 122, 403–413.
- Gong, X.; Bassel, G.W.; Wang, A.X.; Greenwood, J.; Bewley, J.D. (2005) The emergence of embryos from hard seeds is related to the structure of the cell walls of the micropilar endosperm, and not to endo- β -mannanase activity. *Annals of Botany*, v.96, p.1165-1173.
- Groot, S.P.C.; Karssen, C.M. (1968) Gibberellins regulate seed germination in tomato by endosperm weakening: a study with gibberellin-deficient mutants. *Planta*, v.171, p.525-531, 1987.
- Larson, L.A. The effect soaking pea with or without seed coats has on seedling growth. *Plant Physiology*, v.43, p.255-259.
- Leubner-Metzger, G. (2002) Seed after-ripening and over-expression of class I beta-1,3-glucanase confer maternal effects on tobacco testa rupture and dormancy release. Planta, v.215, p.959-968.*

- Leubner-Metzger, G.; Friindt, C.; Meins, F., Jr. (1996) Effects of gibberellins, darkness and osmotica on endosperm rupture and class I β -1,3-glucanase induction in tobacco seed germination. *Planta*, v.199, p.282-288.
- Menezes, N.L.; Silveira, T.L.D.; Storck, L. (1993) Efeito do nível de umedecimento do substrato sobre a germinação de cucurbitáceas. *Ciência Rural*, v.23, p.157-160.
- Muller, K.; Tintelnot, S.; Leubner-Metzger, G. (2006). Endosperm-limited brassicaceae seed germination: abscisic acid inhibits embryo-induced endosperm weakening of *Lepidium sativum* (cress) endosperm rupture of cress and *Arabidopsis thaliana*. *Plant cell physiology*, v. 47, n. 7, p. 864-877.
- Pascual, B.; San Bautista, A.; Pascual Seva, N.; García Molina, R.; López-Galarza, S.; Maroto, J.V.(2009). Effects of soaking period and gibberellic acid addition on caper seed germination. *Seed Science and Technology* ,37, 1, 33-41
- Penfield S, Graham S, Graham Ia. (2005). Storage reserve mobilization in germinating oilseeds: Arabidopsis as a model system. *Biochemical Society Transactions* 33, 380–383.
- Petruzelli L., Muller, K., Hermann, K. And Leubner-Metzger, G (2003). Distinct expression patterns of β -1,3 glucnase and chitinases during the germination of *Solanaceou seeds*. *Seed Science Researche* ,13, 139-153
- Popinigis, F. (1977) Fisiologia da semente. Brasília: AGIPLAN. 289p.
- Pouyù, S. A. S.; Silva, R. F.; Pereira, M. G.; Bressan-Smith, R.; Alves, E.; Marques, E. R. (2007). Nota Preliminar: Utilização de eletromicroscopia de varredura em sementes de mamoeiro *carica papaya* L.; no mamento da germinação. In: FRUTIMAMÃO. BOLETIM TECNICO DA III REUNIÃO DE PESQUISA DO FRUTIMAMÃO. Anais... Campos dos Goytacazes UENF/Caliman. p. 263-267.

- Reyes, M.N.; Pérez, A.; Cuevas, J. (1980) Detecting endogenous growth regulators on the sarcotesta, sclerotesta, endosperm and embryo by paper chromatography on fresh and old seeds of two Papaya's varieties. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, v.64, p.167-172.
- Ritchie, S.; Swanson; S.J.; Gilroy, S. (2000) Physiology of the aleurone layer and starchy endosperm during grain development and early seedling growth: new insights from cell and molecular biology. *Seed Science Research*, v.10, p.193-212.
- Santos, S.A. Dos; Silva, R.F. Da; Pereira, M.G.; Alves, E.; Machado, J.C.; Borém, F.M.; Guimarães, R.M.; Marques, E.R. (2009) Estudos morfo-anatômicos de sementes de dois genótipos de mamão (*Carica papaya* L.). *Revista Brasileira de Sementes*, v.31, p.116-122.
- Simon, E.W.; Raja-Harun, R.M. (1972) Leakage during imbibition. *Journal of Experimental Botany*, v.23, p.1076-1085.
- Tilden, R.L.; West, S.H. Reversal of the effects of ageing in soybean seeds. *Plant Physiology*, v.77, p.584-586, 1985.
- Viggiano, J. R.; Vieira, H. D.; Silva, R. F. Da; Araújo, E. F.; Viana, A. P. (2000) Conservação de sementes de mamão (*Carica papaya* L.) em função do grau de umidade, tipo de embalagem e ambiente de armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v. 22, n. 2, p. 279-287.
- Vertucci, C.W. (1989).The kinetics of seed imbibition: controlling factors and relevance to seedling vigor. In: STANWOOD, P.C.; McDONALD, M.B. (Ed.) *Seed moisture*. Madison: Crop Science Society of America, p.93-115.
- Wu, C.T., Leubner-Metzger, G., Meins, F., J And Bradford, K.J. (2000). Class I β 1-3 -glucanase and chitinase are expressed in the micropylar endosperm of tomato seeds prior to radicle emergence. *Plant Physiology*, 126, 1299-1313

3.4 VIABILIDADE DE CRUZAMENTOS DIALÉLICOS E DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE COMBINATÓRIA DE 4 GENÓTIPOS DE MAMOEIRO EM RELAÇÃO A GERMINAÇÃO DAS SEMENTES

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar a capacidade geral e específica de combinação (CGC e CEC, respectivamente) de genótipos de mamoeiro em relação ao caráter germinação das sementes. Foi utilizado um dialelo 4x4, envolvendo os genótipos 72/12, Golden, JS12 e Maradol, provenientes do Banco de Germoplasma da UENF. As análises dialélicas foram conduzidas na Estação Experimental da Caliman, em Linhares ES, enquanto a análise de germinação foi conduzida na UENF, em casa de vegetação, utilizando-se delineamento em blocos casualizados (DBC) com quatro repetições e 20 sementes por tratamento. Dos 16 híbridos possíveis, apenas 13 foram obtidos e avaliados, devido ao surgimento de oídio. Os valores das estimativas para CGC e CEC foram significativos, indicando a presença de genes de efeito aditivo e de ação gênica de dominância. Os efeitos recíprocos e maternos também foram significativos e indicaram que, além de genes nucleares, existem também genes extra-nucleares controlando a germinação das sementes do mamoeiro. A germinação oriunda dos cruzamentos 72/12 x JS12 e 72/12 x Maradol foi muito baixa, ao passo que o recíproco de 72/12 x JS12 apresentou a maior porcentagem de germinação dentre todos os cruzamentos. Para o recíproco de 72/12 x Maradol, a germinação foi

baixa, mas não tanto quanto a que utilizou o 72/12 como genitor feminino. Os genótipos 72/12 e Golden apresentaram, em ordem decrescente, as maiores magnitudes de efeitos de CGC, sendo o 1º negativo, e o 2º, positivo. Ambos podem ser indicados para programas de melhoramento intrapopulacional. Além disso, o genótipo Golden também teve bom desempenho em cruzamentos específicos, em função da complementação gênica entre os parentais, o que pôde ser verificado pelos valores de CEC para os híbridos oriundos de Golden x JS12 e Golden x Maradol. O genótipo JS12, além de boa CGC, foi superior aos demais quanto a CEC, tendo combinado bem com todos os genótipos desse dialelo, originando híbridos com porcentagem de germinação superior a 80%, principalmente quando utilizado como progenitor feminino.

Termos para indexação: sementes, germinação, análise dialélica, *Carica papaya* L

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the general combining ability (GCA) and specific combining ability (SCA) of four papaya genotypes in relation to the seed germination. The F₁ hybrids were generated by a complete diallel analysis among the genotypes 72/12, Golden, JS12 and Maradol, came from UENF germplasm collection. The diallel analysis was carried out at Caliman Experimental Station, Linhares, Espírito Santo state. The germination assays were conducted in randomized complete block design with four replications and 20 seeds per treatment, at UENF. From the 16 possible hybrids, only 13 were evaluated due to the powdery mildew. The GCA and SCA estimates were both significant, indicating the presence of additive and non-additive genetic effects. Reciprocal and maternal effects were significant as well, suggesting that extra-nuclear genes also control papaya seeds germination. The germination rate from 72/12 x JS12 was very low. However, their reciprocal cross showed the highest germination rate among all attempted crosses. The cross 72/12 x Maradol also had low germination, but not too low as when 72/12 was used as female parent. The highest GCA magnitudes were presented by 72/12 and Golden, although the first one was negative and the

second one, positive. Considering these magnitudes, both of them can be recommended to be used in intrapopulation breeding programs. In addition, the Golden genotype has a good behavior in crosses, which was verified by the SCA values from the hybrids between Golden and JS12 and between Golden and Maradol. The JS12 genotype showed a good GCA and the highest SCA values when compared to the other lines analyzed. Its hybrids presented germination levels over 80%, mainly when it was used as female parent.

Terms for indexation: seeds, germination, diallel analysis, *Carica papaya*.

INTRODUÇÃO

Apesar de o Brasil ser o maior produtor mundial de mamão, ressalta-se a limitação de alternativas de variedades e de híbridos comerciais, devido à estreita base genética dessa frutífera. Assim, estudos sobre a diversidade genética são imprescindíveis para o melhoramento genético, sendo que nos Bancos de Germoplasma, é possível encontrar acessos potencialmente úteis. Entretanto, a concentração das pesquisas visando caracterizar e documentar o mamoeiro baseia-se no tipo, tamanho e peso do fruto, firmeza da polpa, altura da planta, entre outras características de valor agrônômico e comercial. Não há na literatura pesquisas realizadas com sementes do mamão incluído no programa de melhoramento genético. Os incipientes trabalhos com a própria semente se limitam em estudos sobre seu peso, tamanho, efeito de xênia, mas não como o objetivo principal do planejamento do delineamento. No aspecto germinação é evidente a inexistência de um planejamento em um programa de melhoramento genético, não considerando a relevância desse problema para o produtor. As altas produtividades de frutos por planta são o alvo que os melhoristas estão sempre buscando, mas esta característica depende diretamente da qualidade da semente utilizada em germinar.

Os estudos realizados com a germinação das sementes do mamoeiro encontram-se atualmente concentrados na influência de componentes químicos inibidores do processo germinativo constatados na exotesta. Santos et al (2009)

ressaltam em seus trabalhos que é imprescindível outras alternativas de pesquisa para contribuir na elucidação do problema da germinação da semente, pois os resultados obtidos não elucidaram o problema, além de serem conflitantes (Viggiano, 2006).

Dentro desse contexto os resultados até então obtidos ainda não tem conseguido esclarecer a problemática que envolve a germinação, possivelmente por se tratar de uma característica quantitativa, envolvendo vários genes. De acordo com Marin (2001), é justamente a falta de informações sobre parâmetros genéticos e herança das principais características de interesse econômico, além da inexistência de trabalhos sobre capacidade de combinação e de procedimentos de melhoramento genético com espécie *Carica papaya* L., que tem contribuído para a dependência do país de importação de sementes do mercado externo.

A escolha dos parentais a serem utilizados em programas de hibridação e que possibilitem a formação de progênies superiores representa uma atividade que exige critérios e grande esforço dos melhoristas (Ramalho et al, 1993). O delineamento em dialelo é o mais utilizado, pois fornece informações das estimativas da capacidade geral de combinação (CGC) dos progenitores, a capacidade específica de combinação (CEC) dos híbridos F_1 s e F_1 (s)recíprocos, assim como o efeito recíproco (ER). Esses resultados serão importantes para orientar a direção dos pares de cruzamentos que possuem possibilidades de gerar descendência com uma maior porcentagem de germinação.

São inexistentes os trabalhos dentro do melhoramento genético, incluindo o estudo do comportamento dos genótipos em germinar no que tange às sementes do mamoeiro, que por ser lenta e desuniforme, apresenta um pomar com falhas, por causa da sua dormência. A formação de um pomar de mamão comercial é basicamente sexuada, o que por si só, já estimula e justifica essa investigação

Verifica-se na literatura que a utilização de cruzamentos em um dialelo parcial para estudar diversas características agrônômicas e econômicas do fruto de *Carica papaya* L. forneceu informações de muita relevância (Marin et al 2006).

Assim, esse trabalho apresenta como objetivo avaliar, por meio de cruzamentos dialélicos, as estimativas dos quadrados médios de CGC e CEC, o efeito recíproco de 4 genótipos de mamão *Carica papaya* L., assim como os efeitos das capacidades geral (g_i) e específica (s_{ij}) de combinação,

respectivamente, com o intuito de desenvolver linhagens e, ou híbridos de mamão que apresentem uma maior porcentagem média de germinação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas sementes oriundas de 4 genótipos de mamão: 72/12 e Golden, pertencentes ao grupo “Solo” JS12 e Maradol, pertencentes ao grupo “Formosa” de performance agrônômica reconhecida, provenientes do Banco de Germoplasma da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF-, em parceria com a Empresa Caliman, localizada em Linhares,ES.

No ano agrícola de 2007 foi montado o ensaio experimento utilizando um delineamento genético estatístico em cruzamentos dialélicos com os 4 genótipos citados, cruzados dois a dois em todas as combinações possíveis instalado na Estação Experimental da Empresa Caliman no município de Linhares ES. Entretanto, apesar dos esforços empregados para conter o oídio (*Ovulariopsis* sp), a doença provocada por esse fungo impediu alguns cruzamentos de produzirem frutos, com sementes viáveis para o propósito desse trabalho (Tabela 1).

Tabela 1. Cruzamento dialélico 4 x 4 dos genótipos do mamoeiro *Carica papaya* L. Linhares-ES-2007 com os 3 parentais, os 5 híbridos (F₁) e os 5 F₁(s)recíprocos dos genótipos do mamoeiro *Carica papaya* L. Linhares – ES. 2007

Genótipos	Genótipos			
	1 - 72/12	2 – Golden	3 - JS12	4 - Maradol
1 - 72/12	1x1	x	1x3	1x4
2 - Golden	2x1	2x2	2x3	2x4
3 - JS12	3x1	3x2	3x3	x
4 - Maradol	4x1	4x2	x	4x4

As sementes foram removidas dos frutos colhidos desse dialelo quando as mesmas estavam no estágio 4-5 de maturação segundo Aroucha (2004). A

exotesta, envelope mucilaginoso foi extraído por fricção sob água corrente em peneira metálica e seca em estufa de acordo com Brasil (1992). Após esta etapa, as sementes foram transportadas para a UENF para serem submetidas ao teste de germinação em casa de vegetação.

Avaliação da germinação: Este experimento foi conduzido em casa de vegetação da UENF, no período de inverno no ano agrícola de 2008, Campos dos Goytacazes. As sementes foram semeadas em bandejas de isopor, contendo 200 células. O substrato utilizado foi o Plantmax. Em cada célula semeou uma semente, em um delineamento estatístico em blocos inteiramente casualizados (DBC). Utilizou 20 sementes de cada tratamento com 4 repetições. As regas eram feitas todos os dias no período das 17:00h.00min e 18:00h.00min.

Análise genético-estatística: As análises de variâncias foram processadas mediante programa computacional SAS e GENES.

Análise de variância preliminar: A análise de variância (ANAVA) foi processada mediante programa computacional SAS e GENES.

Análise dialélica: Griffing (1956) considera que a conveniência dos quatro métodos de análise dialélica depende do material experimental e dos objetivos do experimento. Nesse trabalho utilizou-se para a análise dialélica a combinação dos Métodos 1 e 4, modelo fixo, Griffing (1956).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A porcentagem média da germinação das sementes é apresentada na Tabela 2. Sendo verificado diferença significativa entre elas ($DMS \leq 0,001$).

Tabela 2. Média da germinação dos parentais, híbridos $F_1(s)$ e $F_1(s)$ recíprocos em cruzamentos dialélicos de sementes de 4 genótipos de mamão (*Carica papaya*) L.

Cruzamentos	Caráter avaliado
	% média de Germinação
1x1	0
1x3	0
1x4	0
2x1	6,25
2x2	0
2x3	77,50
2x4	46,25
3x1	96,25
3x2	88,75
3x3	83,75
4x1	18,75
4x2	15,0
4x4	58,75
DMS	9,14

Genótipos: 1 (72/12), 2 (Golden), 3 (JS12) 4 (Maradol)

Com base na significância do teste F observada na análise de variância, as somas dos quadrados para as médias dos tratamentos foram decompostas em capacidade geral (CGC) e específica de combinação (CEC) e efeito recíproco (E. R.), conforme o Método 1 combinado com o Método 4, proposto por Griffing (1956) (Tabela 3). Os valores dos quadrados médios referentes à CGC e CEC evidenciando a existência de variabilidade aditiva e não aditiva foram significativos, bem como as estimativas dos quadrados médios de ER e efeito materno, ($P \leq 0,01$) evidenciando a existência de variabilidade aditiva e não aditiva.

O termo capacidade geral de combinação é utilizado para designar o comportamento médio de um parental em todos os cruzamentos de que participa (Sprague e Tatum, 1942; Cruz e Vencovsky, 1989; Cruz et. al., 2004) e está associado aos efeitos aditivos dos alelos e às ações epistáticas do tipo aditivo.

Falconer (1981) definiu CEC como sendo o desvio do desempenho médio de uma combinação particular em relação à média dos parentais envolvidos no cruzamento. A capacidade específica de combinação (CEC) representa o desvio, para melhoria ou não, de um determinado cruzamento, tomando por base a média da CGC dos parentais.

Tabela 3. Quadrados médios da capacidade geral de combinação (CGC), da capacidade específica de combinação (CEC), do efeito recíproco, do efeito materno e do erro de acordo com a combinação do Método 1 com o Método 4, Modelo 1, de Griffing. para a germinação de 4 genótipos de semente do mamoeiro. Campos dos Goytacazes, UENF, 2008.

FV		GL	QM	
R		r-1	3	117,15
G		n ² -1	12	5934,54**
	P	n-1	3	7185,42**
	PxC	1	1	175,76**
	C	n(n-1)/2-1	3	5755,73**
	CGC	n-1	1	15314,06**
	CEC	n(n-3)/2	2	976,57**
Efeito	Materno	n-1	2	15192,19**
Efeito	Recíproco		3	23034,37**
Erro			36	41,80
CV: 17,11				
X: 37,79				

** Significativo em nível de 1% pelo teste F

Os efeitos da capacidade geral de combinação (\hat{g}_i) fornecem informações a respeito das potencialidades do parental em gerar combinações favoráveis à formação de genes predominantemente aditivos em seus efeitos (Tabela 4). Quanto mais altas forem essas estimativas, positivas ou negativas, determinado parental será considerado muito superior ou inferior aos demais incluídos (Cruz et al., 2004). Todavia, os efeitos da CEC enfatizam a importância de interações não aditivas resultantes da complementação gênica entre os parentais (Tabela 4), possibilitando antever respostas de ganho genético com a exploração da heterose (Bastos et al., 2003).

Tabela 4. Efeito do quadrado médio da capacidade geral de combinação (gi) para a germinação de 4 genótipos de sementes de mamão. Campos dos Goytacazes, UENF, 2008.

Genótipos	Efeito de (gi) da germinação
72/12	-30,937
Golden	30,938
JS12	7,813
Maradol	-7,813

Assim, a combinação híbrida mais favorável deve ser, portanto, aquela que apresentar maior estimativa de capacidade específica de combinação ($\hat{\sigma}_{ij}$) e que seja resultante de um cruzamento em que pelo menos um dos parentais apresente elevada capacidade geral de combinação (Cruz et al., 2004). Os efeitos de ($\hat{\sigma}_{ij}$) também são úteis para determinar as melhores combinações híbridas, mas assim como a (gi), os efeitos ($\hat{\sigma}_{ij}$) não especificam sozinhos qual dos genitores deve ser utilizado como parental feminino ou masculino no cruzamento (Bordallo et al, 2004), ou seja não indicam qual a melhor direção a ser seguida. Para obter sucesso no cruzamento entre os genótipos, deve-se levar em consideração o ER (Tabela 4) e o efeito materno.

Tabela 5. Efeitos da estimativa dos quadrados médios da capacidade específica de combinação e recíproco (s_{ii} e s_{ij} s_{ji}) para a característica germinação de 4 genótipos de semente de mamão. Campos dos Goytacazes, UENF, 2008

Efeitos S _{ii} , s _{ij} s _{ji})	Caráter avaliado Germinação
1x1	0
1x3	-19,35
1x4	-11,56
2x1	-24,68
2x2	0
2x3	27,187
2x4	3,75
3x1	76,88
3x2	38,43
3x3	
4x1	38,43
4x2	-27,50
4x4	

Genótipos: 1 (72/12), 2 (Golden), 3 (JS12) 4 (Maradol)

Em um cruzamento recíproco, onde um genitor é usado ora como fêmea, ora como macho. Se a herança do caráter for controlada apenas por genes nucleares, os F₁(s) e seus F₁(s) recíprocos serão fenotipicamente idênticos. Entretanto, há características em que os F₁(s) e os F₁(s) recíprocos apresentam fenótipos diferentes. Nesse trabalho constatou que houve diferença significativa para a característica germinação das sementes de mamão dependendo do sexo do genitor.

Verificou que os genótipos Golden e 72/12 apresentaram os efeitos de (\hat{g}_i) superiores em magnitude 30, 937 e -30,937, respectivamente (Tabela 4) em comparação aos demais genótipos. Porém, a média dos quadrados dos efeitos(s_{ij}) e o efeito recíproco apresentaram valores negativos apesar de significativos. Assim, o cruzamento Golden x 72/12 não deve ser recomendado para cultivos comerciais apesar do alto valor do efeito de (\hat{g}_i) para o genótipo Golden. Não há dados suficientes para informações do cruzamento com Golden

sendo o genitor masculino e 72/12 o genitor feminino face ao fato de não ter obtido sementes para germinar.

Verificou que o cruzamento Golden x JS12 apresentou um valor alto dos efeitos de (sij) indicando a presença dos efeitos gênicos de dominância. Porém, tendo em vista o alto valor do efeito de (gi) para Golden, deve se considerar também os efeitos aditivos. O efeito recíproco positivo, entre Golden x JS12 indica a contribuição da herança materna no controle da germinação, permitindo assim que a heterose do híbrido possa ser explorada. Para os efeitos de sij, de todos os híbridos o maior valor e de sinal positivo foi constatado como resultado do cruzamento de Golden x 72/12, pois Golden favorece a germinação por apresentar o maior valor positivo de (gi) para a germinação, e fica evidente nesse cruzamento a herança materna no controle da germinação dos genótipos desse dialelo. Mas esse cruzamento não deve ser indicado para plantios comerciais, pois a porcentagem da germinação foi muito baixa. No cruzamento Golden x Golden a germinação também foi baixa. No entanto os cruzamentos JS12 x Golden apresentaram germinação de quase 90%.

Nesse trabalho constatou que houve diferença significativa para a característica germinação das sementes de mamão dependendo do sexo do genitor. Cruzamentos cujo fenótipo do genitor feminino sempre prevalece, explica-se por duas alternativas; por causa da contribuição dos seus genes extracromossômicos encontrados no citoplasma do genitor fêmea. E a segunda explicação é que há também genes nucleares no genitor feminino que são responsáveis por determinadas condições do citoplasma do óvulo, podendo ser um produto gênico (Ramalho et al, 2004). Para plantios comerciais o cruzamento JS12 x 72/12 pode ser indicado, pois apresentou resultados na porcentagem de germinação superior a todas as demais combinações desse dialelo, acima de 90%. Entretanto, o cruzamento 72/12 x JS12 não deve ser recomendado para plantios comerciais, devido a baixa germinação constatada. Esse resultado mais uma vez colabora para a afirmação que a germinação das sementes de mamão, está sob controle do efeito maternal, pois o JS12 como genitor feminino se destacou, e a polinização com 72/12 não influenciou negativamente na germinação como era de se esperar. O efeito recíproco nesse cruzamento 72/12 x JS12 foi o que apresentou maior valor. A herança materna quando detectada é

eficiente na contribuição de direcionar os cruzamentos no sentido da obtenção dos melhores híbridos.

O alto valor do efeito de (\hat{g}_i) do genótipo 72/12 mesmo que negativo, significa que o mesmo possui potencial para ser utilizado em um programa de melhoramento genético para melhorar a qualidade em germinar das sementes de *Carica papaya* L. Segundo Oliveira Junior et al. (1999), aqueles parentais com as maiores estimativas positivas ou negativas de \hat{g}_i seriam potencialmente favoráveis quanto às suas contribuições em programas de melhoramento intrapopulacional. Os efeitos da s_{ij} para Golden x Maradol também contribuíram positivamente para a germinação, face ao seu valor e o efeito de (g_i). O efeito recíproco negativo indica que Maradol influencia negativamente a performance de Golden. Nos demais cruzamentos, todos os efeitos recíprocos apresentaram valores altos e positivos. O genótipo JS12, assim como o Golden, foram os que quando presentes em um cruzamento apresentaram as maiores porcentagens de germinação. Entretanto, JS12 foi o que apresentou as maiores porcentagens de germinação, acima de 80%. Esse genótipo, JS12, de acordo com esse experimento, é indicado para programa de melhoramento genético, para melhorar a germinação das sementes de *Carica papaya* L. devido à sua boa capacidade de combinar com outros genótipos, tanto quanto a sua capacidade específica de combinar como genitor feminino com 72/12, com o Golden em ambos os sentidos, ou seja como fêmea ou como macho e consigo próprio, evidenciando também a presença de efeitos gênicos de dominância.

CONCLUSÕES

O uso dos cruzamentos dialélicos para a germinação de sementes de *Carica papaya* L. forneceu informações relevantes. Os efeitos de (g_i) de (s_{ij}) ER e efeitos maternos, foram significativos. A presença da herança materna para a germinação evidenciada nos híbridos indica que somente a estimativa da (s_{ij}) não é indicador da superioridade ou inferioridade de um genótipo. É imprescindível que considere no cruzamento qual genótipo será o progenitor feminino e o masculino.

Os melhores genótipos para combinar com os demais foram o Golden e o JS12. O genótipo JS12 foi o mais promissor, apresentando herança aditiva e não aditiva tanto com os híbridos $F_{1(s)}$ e $F_{1(s)}$ recíprocos com as maiores porcentagem de germinação. O genótipo 72/12 e Golden devido aos efeitos de (gi) são indicados para serem usados em programas de melhoramento intrapopulacional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaral Junior, A.T. ; Casali, V.W.D.; Scapim,C.A.; Silva, D.J.H.; Cruz, C.D. (1996) Genética e melhoramento de plantas. Análise dialélica da capacidade combinatória de cultivares de tomateiro. *Bragantia*, Campinas (55) 1: 67-73.
- Cruz, C. D.; Regazzi, A. J.; Carneiro, P. C. S.(2004). Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa, MG: UFV, Cap. VII, p. 223-375.
- Cruz, C.D.; Vencovisk,R. (1989). Comparação de alguns métodos de análise dialélica. *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, 12: 425-439.
- Falconer, D.S. (1981). Introdução à genética quantitativa. Viçosa, MG: UFV. Imp. Univ. 279 p.
- Marin, S.L.D. ; Pereira, M.G.; Amaral Junior. A.T.; Martelleto, L.A.P., Ide, C.D. (2006). Heterosis in papaya hybrids partial diallel of 'Solo' e 'Formosa' parents. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 6:24-29.
- Marin, S.L.D.; Pires, A.V.; Torezani, E.G.; Frigini, J.M.N.; Modenesi, G.A. (2005). Melhoramento genético do mamoeiro (*Carica papaya* L.): desenvolvimento e recomendação de híbridos para a região norte do estado do Espírito Santo. *Papaya Brasil*.
- Oliveira Júnior, A.; Miranda, G. V.; Cruz, C. D. (1999). Predição de populações F₃ a partir de dialelos desbalanceados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 34, n. 5, p. 781- 787.

- Sacramento, C. K., Pereira, F.M.; Perecin, D E Sabin, J. C (1999) Capacidade combinatória para frutificação em cultivares de noqueira macadâmia *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.34, n.11, p.2045-2049.
- Sprague G F & Tatum L A. (1942). General vs. specific combining ability in single crosses of corn. *J. Amer. Soc. Agron.* 34: 923-32.
- Vencovsky, R.; Barriga, P. (1992). *Genética biométrica no fitomelhoramento*. Ribeirão Preto: Revista Brasileira de Genética, 496 p.
- Viana, J. M. S. (2000). The parametric restrictions of the Griffing diallel analysis model: combining ability analysis. *Genetics and Molecular Biology*, v. 23, n. 4, p. 877-881.

4 RESUMO E CONCLUSÕES

Os experimentos realizados nesses trabalhos são pioneiros e apresentaram resultados muito relevantes para condução, e planejamento de um programa de melhoramento, cujo atributo agrônômico analisado foi a germinação das sementes de diferentes genótipos de mamão. Pois a caracterização do germoplasma foi realizada por meio de pesquisas morfológicas das estruturas das sementes do mamoeiro. Os genótipos utilizados foram *Sunrise Solo 783* e *Formosa Roxo 45* representantes dos grupos 'Solo' e 'Formosa' de *Carica papaya* L. Duas estruturas foram verificadas no tegumento, em ambos os genótipos, sendo a primeira de fora para dentro, a testa, que é constituída pelas camadas exotesta, mesotesta e endotesta e a segunda estrutura é o tégmen. Em ambos foi verificado o endosperma de coloração branca leitosa, que envolve o eixo embrionário e os cotilédones também de coloração branca leitosa. Estes por sua vez são de consistência firme e encontram-se bem aderidos ao endosperma, em ambos os genótipos. No *Sunrise Solo 783* observou-se a presença de sementes chochas. Os estudos anatômicos permitiram observar que as células da mesotesta dos dois genótipos estudados mostraram diferenças anatômicas em relação ao tamanho e formato, sendo verificado também diferença na proporção de células da camada cristalífera em ambos os genótipos, *Sunrise Solo 783* possui células maiores e mais alongadas, além de um maior número de camada de células contendo cristais de oxalato quando comparadas com as células do *Formosa Roxo 45*. Nas células do tégmen foi verificado também diferenças estruturais, nos dois genótipos estudados.

As células do endosperma contêm lipídios, camada protéica de aleurona, porém desprovidas de amido tanto no *Sunrise Solo783*, quanto no *Formosa Roxo 45*. As células do eixo embrionário e dos cotilédones em ambos os genótipos contêm grânulos de amido.

A técnica de raios-X permitiu visualização satisfatória das estruturas internas das sementes de mamoeiro possibilitando a discriminação de classes anatômicas das sementes possivelmente associadas à germinação. Sendo a exposição à radiação 20 kV/1,5 minutos que gerou imagens radiográficas mais apuradas das sementes. As classes anatômicas constatadas pelo teste de raios-X, indicaram que as sementes cheias, ou seja, aquelas que incluem as sementes cuja análise radiográfica permitiu visualizar todas as estruturas corresponderam a 83% das sementes germinadas.

Foi verificado que as estruturas possuem uma ação coordenada influenciando a germinação. O endosperma influencia negativamente na germinação quando na ausência do tegumento. Por outro lado o tegumento, com a exotesta ausente, não prejudicou a germinação das sementes do mamoeiro. As sementes intactas e as sementes contendo apenas o eixo embrionário e os cotilédones germinaram normalmente, e não houve diferença na porcentagem de germinação entre as mesmas.

Os resultados indicam a viabilidade dos cruzamentos dialélicos em potencializar informações sobre a germinação. A germinação das sementes oriundas desse cruzamento dialélico apresentou estimativas dos quadrados médios da CGC e CEC assim como os efeitos (gi) e (sij), significativos, indicando a presença de genes aditivos e não aditivos. Os resultados para o ER e o efeito materno, também foram significativos. Golden apresentou supremacia em relação a todos genótipos estudados, tanto para os efeitos de (gi) quanto para (sij). Golden portanto pode ser indicado para plantios comerciais e também em programas de melhoramento intrapopulacional, o 72/12 também pode ser, pois o valor dos efeitos (gi) foi alto, apesar de negativo. O ER foi significativo em todos os cruzamentos, ressaltando para o produtor, entretanto, que a germinação das sementes estudadas possui herança controlada por genes maternos, excluindo assim a possibilidade de efeito xênia. A título de exemplo, é apresentado os cruzamentos 72/12 x JS12, cuja germinação foi muito baixa, e o seu recíproco JS12x 72/12 foi o que apresentou a maior porcentagem de germinação. Vale ainda ressaltar que essa informação que

permite direcionar os cruzamentos para obtenção de híbridos superiores é imprescindível para o sucesso do programa de melhoramento genético, para plantas como o mamoeiro que num cruzamento ora é fêmea, ora é macho.

No entanto apesar da semente ser o órgão que contem todas as informações sobre a planta, e ser a principal maneira de propagação do mamoeiro, a mesma é pouco pesquisada. As informações obtidas nesse trabalho são pioneiras, básicas, com um cunho de relevância mais prático, iniciando com o estudo da caracterização da semente, até o estudo sobre a viabilidade dos cruzamentos dialélicos em fornecer informações úteis, para desenvolver sementes híbridas nacionais com melhores e maiores porcentagem de germinação e menos onerosas.

Assim é mister dar continuidade aos trabalhos realizados, pois tendo em conta o que foi verificado nos cruzamentos dialélicos, é possível avaliar outros parâmetros genéticos importantes, como herdabilidade, heterose etc. Além do suporte da biologia molecular, engenharia genética; transcriptoma, que por sua vez possibilita chegar ao gene que inibe a germinação (comunicação pessoal, planejado com Dr Renato Mendes Guimarães, Laboratório de análise de sementes UFLA).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaral Junior, A.T. ; Casali, V.W.D.; Scapim,C.A.; Silva, D.J.H.; Cruz, C.D. (1996) Genética e melhoramento de plantas. Análise dialéctica da capacidade combinatória de cultivares de tomateiro. *Bragantia*, Campinas (55) 1: 67-73.
- Badillo, V.M. (1993) Caricaceae. Segundo esquema. *Rev. Fac. Agron. Univ. Centr. Venezuela* 43: 1-111.
- Badillo, V.M. (2000). *Carica* L. vs. *Vasconcella* St. Hil. (Caricaceae): con la rehabilitación de este último. *Ernstia* 10: 74-79.
- Badillo, V.M., Van den Eynden, V., Van Damme, P. 2000. *Carica palandensis* (Caricaceae), a new species from Ecuador. *Novon* 10: 4-6.
- Bino, R.J.; Aartse, J.W.; Burg, W.J. Van Der. (1993). Non-destructive X-ray of *Arabidopsis* embryo mutants. *Seed Science Research*, Wallingford, v.3, p.167-170.
- Brasil. (1992) Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes. 365pp.

- Camargo, J.P. (1997). Estudos sobre a propagação da castanheira do Brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.). 1997. 126f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Cícero, S. M.; Van Der Heijden, G.W.A.M.; Van Der Burg W.J.; Bino, R.J. (1998). Evaluation of mechanical damages in seeds of maize (*Zea mays* L). by X ray and digital imaging. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.26, n. p.603- 612.
- Copeland, L.O. & Mcdonald, M.S. (1985). Principles of seed science an technology. New York: MacMillan Publishing Company, 321p.
- Craviotto, R.M.; Yoldjian, A.M.; Salinas, A.R.; Arango, M.R.; Bisaro, V.; Maturo, H. (2002). Description of pure seed fraction of oat through usual evaluations and radiographic images. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 37, n. 8, p. 1183-1188, Ago.
- Cruz, C.D.; Vencovisk,R. (1989). Comparação de alguns métodos de análise dialélica. *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, 12: 425-439.
- East, E.M. (1908). Inbreeding in corn. *Rep. Connecticut Agric. Exp. Stn*
- Cruz, C.D.; Regazzi, A.J.; Carneiro, P.C.S. (2004). Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, p.223-375.
- Cruz, C.D.; Regazzi, A.J. (1994). Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, 390p.
- Davenport, C.B. (1908). Degeneration, albinism and inbreeding. *Science* 28: 454–455.
- Duvick, D.N. (2001). Biotechnology in the 1930s: The development of hybrid maize. *Nat. Rev. Genet.* 2: 69–74.

Ferregueti, G. A. (2003) Acesso em 10/08/2008. Disponível em:
http://www.caliman.com.br/Papaya/Download/hibrido_uenf_caliman01.doc

Ferreira, R.F. (1988). Conservação de germoplasma In Vivo. In: Encontro sobre Recursos Genéticos, 2, 1988, Jaboticabal. Anais... Jaboticabal, FCAV, p.96-101.

Fox, P. N.; Crossa, J.; Romagosa, I. (1997). Multi-environment testing and genotype x environment interaction. In: KENPTON R. A.; FOX, P. N. [Eds.] Statistical methods for plant variety evaluation. London: Chapman and Hall, p. 117-138.

Fraife Filho G. A.; Dantas J. L. L.; Leite J. B. V. ; Oliveira J. R. P. (2001). Avaliação de variedades de mamoeiro no extremo sul da Bahia. Magistra, EMBRAPA Almas-Ba, V. 13, N. 1. p1

Gardner, C. O.; Eberhart, S. A. (1966). Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related population. Biometrics, Raleigh, v.45, p.439-452.

Giacometti, D.C., Ferreira, F.R. (1988) Melhoramento genético do mamão no Brasil e perspectivas. In: RUGGIERO, C. ed. Mamão. Jaboticabal: FCAV/UNESP, p. 377-388.

Goedart, C.O. (1988). Conservação de germoplasma semente. In: Encontro sobre Recursos Genéticos, 2, 1988, Jaboticabal. Anais... Jaboticabal, FCAV, p.78-98.

Guarino, L.; Ramantha Rao, V. Reid, R. (1995). Collecting plant genetic diversity: Technical guidelines. CAB International/ IPGRI: Wallingford, 748p.

- Graham, G.I., Wolff, D.W., and Stuber, C.W. (1997). Characterization of a yield quantitative trait locus on chromosome 5 of maize by fine mapping. *Crop Sci.* 37: 1601–1610.
- Griffing, B. (1956). Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing system. *Aust. J. Biol.* 9: 463-493.
- Hayman, B.I. (1954). The theory and analysis of diallel crosses. *Genetics*, v.39, p.789-809.
- Hallauer, A.R.; Miranda Filho, J.B. (1981). *Quantitative Genetics in Maize Breeding*. Ames: Iowa State University Press, 468p.
- International Seed Testing Association – ISTA. (1993) International rules for seed testing. *Seed Science and Technology*, 21, Supplement, 363pp.
- Jones, D.F. (1917). Dominance of linked factors as a means of accounting for heterosis. *Genetics* 2: 223–238.
- Justo, C. F; Alvarenga, A. L.; Alves, E; Guimarães, R. M.; Strassburg, R. C. (2007). Efeito da secagem, do armazenamento e da germinação sobre a micromorfologia de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. *Acta bot. bras.* 21(3): 539-551.
- Kang M. S.; Gauch Jr., H. G. (1996). *Genotype by environment interaction*. New York: CRC Press, 16 p.
- Kempthorne, O. & Curnow, R.N. (1961). The partial diallel cross. *Biometrics* 17: 229-250.
- Lins, S.R.O.; Alves, E. & Abreu, M. S. (2007). Estudos histopatológicos de *Colletotrichum* spp. em plântulas de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira* 32:488-495.

- Liu, Y.; Hilhorst, H.W.M.; Groot, S.P.; Bino, R.J. (1997). Amounts of nuclear DNA and internal morphology of gibberellin-and abscisic acid-deficient tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds during maturation, imbibition and germination. *Annals of Botany Company, London*, v.79, n.2, p.161-168.
- Luna, J.V.U. (1986) Variedades de mamoeiro. *Informe Agropecuário*, v.12, p.14-18.
- Machado, C.F. (2002). Metodologia para a condução do teste de germinação e utilização de raios-X para a avaliação da qualidade de sementes de aroeira-branca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl.). Piracicaba. 2002. 51f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.
- Marin, S.L.D.; Gomes, J.A.; Alves, F.L. (1987) Introdução, avaliação e seleção do mamoeiro cv. Improved Sunrise Solo Line 72/12 no Estado do Espírito Santo. Vitória: EMCAPA, 13 p. (EMCAPA, Documentos, 59).
- Marin, S.L.D. (1995). Proposições para o melhoramento genético do mamoeiro. Campos: Universidade Estadual do Norte Fluminense, 1p. (Seminário apresentado no CNPMF/EMBRAPA).
- Marin, S.L.D., Gomes, J.A., Rizzo, J.G. (2000). Curso Tecnologia de Produção de Fruteiras Tropicais no Cerrado - Cultura do mamão. Brasília: EMBRAPA CERRADOS, p.4-13.
- Marin, S.L.D.; Pires, A.V.; Torezani, E.G.; Frigini, J.M.N.; Modenesi, G.A. (2005). Melhoramento genético do mamoeiro (*Carica papaya* L.): desenvolvimento e recomendação de híbridos para a região norte do estado do Espírito Santo. *Papaya Brasil*.
- Marin, S.L.D. ; Pereira, M.G.; Amaral Junior. A.T.; Martelleto, L.A.P., Ide, C.D. (2006). Heterosis in papaya hybrids partial diallel of 'Solo' e 'Formosa' parents. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 6:24-29.

- Marinho, A.B. (2007).Ciência e tecnologia secretaria do Estado do Rio de Janeiro
- Mather, K.; Jinks, J.L. (1971). *Biometrical genetics*. London: Chapman and Hall, 382p.
- Matheson, A. C.; Raymond, C. A. (1986). A review of provenance x environment interaction: its practical importance and use with particular reference to the tropics. *Commonwealth Forestry Review*, Oxford, v. 65, n. 4, p. 283-302,
- Medina, J.C. (1989). (Ed.) Mamão: cultura, matéria-prima, processamentos e aspectos econômicos. 2.ed. Campinas: ITAL, p.25-43 (Série Frutas Tropicais 7).
- Miranda Filho, J.B.; Geraldi, I.O. (1984). An adapted model for th analysis of partial dialel crosses. *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, v.7, n.4, p.677-88.
- Nassif, D. S. P & Cicero, S. M. (2006). Avaliação de sementes de acerola por meio de raios-x. *Rev. Bras. Frutic.* [online]. v. 28, n. 3, pp. 542-545. ISSN 0100-2945.
- Poulsen, K.M.; Parratt, M.J.; Gosling, P.G. (1998). (Ed.) Tropical and subtropical tree and shrub seed handbook. Zurich: ISTA, 204p.
- Ramalho, M.A.P.; Santos, J.B. Dos; Zimmermann, M.J. de O. (1993). Genética quantitativa em plantas autógamias: aplicações ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia: Ed. da UFG, p.93-135.
- Ruggiero, C. (1982) Estudo do comportamento das cultivares de mamoeiro (Carica papaya L.) 'Waimanalo' e 'SunriseSolo' na região de Jaboticabal. Tese Livre Docência, UNESP. 128p.

- Santos, S. A. Dos; Silva, R.F.; Pereira, M.G.; Alves, E.; Machado, J.C. Borém, F.M.; Guimarães, R.M.; Marques, E.R. (2009). Estudos morfo anatômicos de sementes de dois genótipos de mamão *Carica papaya* L. *Revista Brasileira de Sementes*, 31.
- Sahlén, K.; Bergsten, U.; Wiklund, K. (1995). Determination of viable and dead scots pine seeds of different anatomical maturity after freezing using the IDX method. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.23, n.2, p.405-414.
- Shull, G.H. (1908). The composition of a field of maize. *American Breeders Assoc. Rep.* 4: 296–301.
- Simak, M.; Gustafsson, Å. (1953) X-Ray photography and sensitivity in forest tree species. *Hereditas*, 39, 458-468.
- Simak, M. (1980) X-Radiography in research and testing of forest tree seeds. Report SUAS Department of Silviculture, 3, 1-34.
- Simak, M.; Bergsten, U.; Henriksson, G. (1989). Evaluation of ungerminated seeds at the end germination test by radiography. *Seed Science and Technology*, Zurich, v.17, n.2, p.361-369,
- Simak, M. (1991) Testing of forest tree and shrub seeds by X-radiography. In: GORDON, A.G.; GOSLING, P.G.; WANG, B.S.P. (Ed.) *Tree and shrub seed handbook*. Zürich: International Seed Testing Association, 14-28.
- Smith, A.J.; Grabe, D.F. (1985). Radiographic density measurements for determination of viability and vigour in corn (*Zea mays*) seeds. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.13, n.3, p.759-768.
- Sprague G F & Tatum L A. (1942). General vs. specific combining ability in single crosses of corn. *J. Amer. Soc. Agron.* 34:923-32.

- Sreenivasulu, Y. Chanda, S.K. and Ahuja, P.S.(2009). Endosperm delays seed germination in *Podophyllum hexandrum* Royle - an important medicinal herb. *Seed Science and Tecnology* 37, 1, 10-16.
- Storey, W. B. The botany and sex relations of de papaya. In: Papaya production in the Hawaiian Islands. Hawaii: Agr. Exp. Sta., Univ. Hawaii, 1941. p. 5-22. (Bul. 87).
- Stuber, C.W., Lincoln, S.E., Wolff, D.W., Helentjaris, T., and Lander, E.S. (1992). Identification of genetic factors contributing to heterosis in a hybrid from two elite maize inbred lines using molecular markers. *Genetics* 132: 823–839.
- Swaminathan, M.S.; Kamra, S.K (1961) X-Ray analysis of the anatomy and viability of seeds some economic plants. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, New Delhi, v.21, n.2, p.129-135.
- Van Der Burg, W.J.; Aartse, J.W.; Van Zwol, R.A.; Bino, R.J. (1994). Predicting tomato seedling morphology by X-ray analysis of seeds. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.119, n.2, p. 258-263,
- Van Droogenbroeck, B.; Breyne, P.; Gotghebeur, P.; Romeijn-Peeters, E.; Kyndt, T.; Gheysen, G.(2002) AFLP analysis of genetic relationships among papaya and its wild relatives (Caricaceae) from Ecuador. *Theoretical and Applied Genetics*, v.105,p.289-297.
- Van Droogenbroeck, B.; Kyndt, T.; Maertens, I.; Romeijn-Peeters, E.; Scheldeman, X.; Romero-Motochi, J.; Van Damme, P.; Goetghebeur, P.; Gheysen, G. Phylogenetic analysis of the highland papayas (*Vasconcellea*) and allied genera (Caricaceae) using PCR-RFLP(2004) *Theoretical and Applied Genetics*, v.108, p.1473-1486.
- Vencovsky, R. (1978). Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E. (Ed.). *Melhoramento e produção do milho no Brasil*. Campinas : Fundação Cargill, p.122-201.

Vencovsky, R.; Barriga, P. (1992). Genética biométrica no fitomelhoramento. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 496p.