

ABORDAGEM CLÁSSICA E MOLECULAR DO MELHORAMENTO  
GENÉTICO DO MAMOEIRO (*Carica papaya* L.)

**FRANCISCO FILHO DA SILVA**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY  
RIBEIRO - UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ

ABRIL - 2006

ABORDAGEM CLÁSSICA E MOLECULAR DO MELHORAMENTO  
GENÉTICO DO MAMOEIRO (*Carica papaya* L.)

**FRANCISCO FILHO DA SILVA**

“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 Doutor em Produção Vegetal”

Orientador: Prof. Messias Gonzaga Pereira

CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ  
ABRIL - 2006

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCTA/UENF 046/2006

Silva, Francisco Filho da

Abordagem clássica e molecular do melhoramento genético do mamoeiro (*Carica papaya* L.) / Francisco Filho da Silva. – 2006.  
133 f. : il.

Orientador: Messias Gonzaga Pereira

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2006.

Bibliografia: f. 125–133.

1. Mamão 2. Marcadores de DNA 3. Expressão sexual 4. Retrocruzamento 5. Parâmetros e ganhos genéticos I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD– 634.651233

ABORDAGEM CLÁSSICA E MOLECULAR DO MELHORAMENTO  
GENÉTICO DO MAMOEIRO (*Carica papaya* L.)

FRANCISCO FILHO DA SILVA

“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 Doutor em Produção Vegetal”.

Aprovada em 04 de Abril de 2006

Comissão Examinadora:

---

Prof. Alexandre Pio Viana (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF

---

Prof<sup>a</sup>. Telma Nair Santana Pereira (Ph.D, Melhoramento de Plantas) – UENF

---

Dr. Laércio Francisco Cattaneo (D.Sc., Produção Vegetal) – INCAPER/ES

---

Prof. Messias Gonzaga Pereira (Ph.D., Melhoramento de Plantas ) – UENF  
(Orientador)

Aos meus pais, Francisco (*em memoria*) e Antonia; à minha irmã, Maria; ao meu cunhado, Antonio, aos meus sobrinhos (as); aos meus padrinhos, Almiro e Alcina, e às suas filhas, e às minhas afilhadas Adriana e Ludmylla

Dedico este trabalho

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por todas as conquistas.

Aos meus pais, Francisco (*em memória*) e Antonia; aos meus padrinhos, Almiro e Alcina; à minha irmã, Maria; ao meu cunhado, Antonio, e aos meus sobrinhos (as), pela amizade e incentivos.

Às minhas amigas e irmãs, Almilândia, Alcilandy, Almilene, Alcilene, Elizete, Euma e Edina, que tanto torceram por mim.

À minha namorada, Tatiana e seus familiares, pelo carinho e amizade.

À UENF, pela oportunidade de realizar o curso de Doutorado em Produção Vegetal.

Ao professor Messias Gonzaga Pereira, pelos ensinamentos, pelo incentivo, amizade e orientação.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

À FINEP pelo suporte financeiro das pesquisas.

À Caliman Agrícola S.A, pelo suporte financeiro e por todo apoio e infra-estrutura oferecidos para o desenvolvimento do trabalho, em especial ao diretor técnico Geraldo A. Ferregueti, aos técnicos Roque, Elton e Elielder, ao Flávio e José Alves pelo treinamento e pelo apoio direto na execução das pesquisas.

Aos professores (as) Telma N.S. Pereira, Alexandre Pio Viana, Gonçalo A. de Souza Filho e Rogério F. Daher, pela amizade e pelas valiosas contribuições para com o trabalho.

À técnica de laboratório Vitória Régia pela colaboração nas etapas de laboratório e pela amizade.

Ao professor Ricardo Bressan-Smith, pela amizade e, sobretudo, por ter me incentivado a fazer o Doutorado na área de Análise Genômica e Melhoramento de Plantas.

Aos colegas do LMGV (todos os setores) pelo companheirismo, em especial ao Pedro Damasceno Jr., a Wellington Campos e a Helaine Christine pela participação direta na realização dos experimentos, ao Edemir, Gustavo, Cristiano, Renato, Karina, Andréa, Elaine Riva, Fabiane e Ioná pelos momentos de ralação nas disciplinas, à Ana Paula, Flávio Tardin, Paula Guimarães, Michele, Aline, Fernanda e bolsistas do LMGV pela amizade.

Às colegas Neuma, Alessandra e Isabela pela amizade.

A todos os professores da Produção Vegetal e da Genética e Melhoramento de Plantas que contribuíram direta ou indiretamente para com o meu Doutorado.

Aos amigos de apartamento com os quais convivi em Campos, Afonso, Denílson, Robson, Hugo, Aroldo e Sávio, pelo excelente convívio.

A todos os servidores da UENF, pelos valiosos serviços prestados.

À segurança, por nos garantir um maior conforto em freqüentar a UENF em qualquer horário da noite, feriados e finais de semana.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	viii
ABSTRACT .....	x
1. INTRODUÇÃO .....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	03
2.1. Aspectos sócio-econômicos da cultura do mamoeiro .....	03
2.2. Classificação botânica .....	05
2.3. Aspectos reprodutivos .....	06
2.3.1. Tipos florais .....	06
2.3.2. Herança do sexo .....	08
2.3.3. Tipos de cruzamentos .....	10
2.3.4. População com base na expressão do sexo .....	11
2.3.5. Fatores não genéticos envolvidos na expressão do sexo .....	12
2.4. Aspectos gerais do melhoramento genético do mamoeiro .....	14
2.5. Importância dos marcadores genéticos .....	16
2.6. Utilização dos marcadores moleculares no melhoramento de plantas .....	18
2.6.1. Caracterização de acessos e descrição de variedades .....	18
2.6.2. Estudos de diversidade genética .....	19
2.6.3. Retrocruzamentos .....	21
2.6.4. Programas de pré-melhoramento .....	22
2.6.5. Marcadores moleculares na cultura do mamoeiro .....	23
3. TRABALHOS .....	25



3.1. MONITORAMENTO DA VARIABILIDADE GENÉTICA EM PROGENITOR DE MAMOEIRO O 'FORMOSA' DO HÍBRIDO 'UENF/CALIMAN 01' VIA RAPD .....	26
3.1.1. RESUMO .....	27
3.1.2. ABSTRACT .....	28
3.1.3. INTRODUÇÃO .....	29
3.1.4. MATERIAL E MÉTODOS .....	31
3.1.4.1. Material genético .....	31
3.1.4.2. Extração do DNA genômico .....	32
3.1.4.3. Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (RAPD) .....	33
3.1.4.3.1. Reação de polimerase em cadeia (PCR).....	33
3.1.4.4. Análise dos dados moleculares.....	33
3.1.4.5. Análise estatística.....	33
3.1.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	35
3.1.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	44
3.2. AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO SEXUAL DO MAMOEIRO NO INVERNO E NO VERÃO EM LINHARES – ESPÍRITO SANTO .....	46
3.2.1. RESUMO .....	47
3.2.2. ABSTRACT .....	49
3.2.3. INTRODUÇÃO .....	51
3.2.4. MATERIAL E MÉTODOS .....	53
3.2.4.1. Localização do experimento .....	53
3.2.4.2. Material genético .....	53
3.2.4.3. Instalação e avaliação do experimento.....	54
3.2.4.4. Dados climatológicos .....	54
3.2.4.5. Análise estatística.....	56
3.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	57
3.2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	67
3.3. ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS E DO GANHO DE SELEÇÃO EM GERAÇÕES SEGREGANTES DE MAMOEIRO ( <i>Carica papaya</i> L.) .....	69
3.3.1. RESUMO .....	70
3.3.2. ABSTRACT .....	72
3.3.3. INTRODUÇÃO .....	74

3.3.4. MATERIAL E MÉTODOS .....	76
3.3.4.1. Material genético .....	76
3.3.4.2. Instalação e avaliação do experimento .....	77
3.3.4.3. Análise estatística dos dados .....	80
3.3.4.3.1. Análise de variância .....	80
3.3.4.3.2. Parâmetros genéticos (Fehr, 1987) .....	81
3.3.4.3.3. Seleção combinada e direta dentro de tratamento .....	82
3.3.4.3.4. Determinação do ganho genético .....	83
3.3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	84
3.3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	97
3.4. CONVERSÃO SEXUAL EM GENÓTIPO ELITE DE MAMOEIRO ASSISTIDA POR MARCADORES DE DNA .....	99
3.4.1. RESUMO .....	100
3.4.2. ABSTRACT .....	102
3.4.3. INTRODUÇÃO .....	104
3.4.4. MATERIAL E MÉTODOS .....	107
3.4.4.1. Material vegetal .....	107
3.4.4.2. Instalação e avaliação dos experimentos .....	107
3.4.4.3. Esquema resumido dos experimentos .....	108
3.4.4.4. Extração do DNA genômico .....	110
3.4.4.5. Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (RAPD) .....	111
3.4.4.5.1. Reação da polimerase em cadeia (PCR) .....	112
3.4.4.6. Análise dos dados moleculares .....	112
3.4.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	113
3.4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	120
4. RESUMO E CONCLUSÕES .....	122
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	125

## RESUMO

SILVA, FRANCISCO FILHO, D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Abril de 2006, Abordagem clássica e molecular do melhoramento genético do mamoeiro (*Carica papaya* L.). Orientador: Messias Gonzaga Pereira. Conselheiros: Alexandre Pio Viana, Gonçalo Apolinário de Souza Filho e Telma Nair Santana Pereira.

O melhoramento genético do mamoeiro (*Carica papaya* L.) no Brasil, associado a boas práticas de manejo pode contribuir substancialmente para o aumento da produtividade e para a melhoria das características qualitativas do fruto. Este objetivo pode ser alcançado, em parte, por meio do acesso a informações básicas relativas à herança das principais características agronômicas que se deseja melhorar, assim como da variabilidade genética disponível para o melhoramento. Associado aos procedimentos clássicos de melhoramento, o uso de marcadores de DNA trouxe uma perspectiva inteiramente nova para a cultura do mamoeiro por meio do melhoramento assistido. Portanto, o objetivo principal deste trabalho foi realizar a conversão sexual do genótipo 'Cariflora', do estado dióico (população com plantas femininas e masculinas) para o gnóico-andromonóico (população com plantas femininas e hermafroditas), por meio da introgressão do alelo  $M^2$ , assistido pelos marcadores de DNA. Paralelamente, foram selecionadas plantas superiores na população RC<sub>1</sub> para o avanço de gerações, possibilitando estimar os parâmetros genéticos e o ganho genético para as características avaliadas em gerações segregantes. Um segundo objetivo do trabalho foi monitorar a variabilidade genética em gerações de autofecundação em mamoeiro do grupo

'Formosa' via RAPD (Random Amplified Fragment Polymorphic DNA). Os resultados indicam que os marcadores RAPD foram eficientes na discriminação genética, tanto das gerações de autofecundação ( $C_1$ ,  $C_2$  e  $C_3$ ) no genitor 'Formosa' do híbrido 'UENF/CALIMAN 01', quanto dos indivíduos  $RC_2$ , geneticamente mais próximos do genitor recorrente (Cariflora). Aplicando-se um teste de Qui-quadrado (5% de significância) no estudo das marcas polimórficas dos ciclos  $C_1$ ,  $C_2$  e  $C_3$ , verificou-se que a redução do número de marcas polimórficas do  $C_1$  (60) para o  $C_2$  (23) e do  $C_2$  para o  $C_3$  (17), se ajusta ao esperado, que seria de 60 ( $C_1$ ), 30 ( $C_2$ ) e 15 ( $C_3$ ). Portanto, não há razão para discordar de que a redução do polimorfismo ao longo dos ciclos de autofecundação foi de 50 % a cada geração. Na geração  $RC_2$ , a matriz de divergência genética, com base nas 54 marcas RAPD, indica uma semelhança entre o genitor recorrente (Cariflora) e as plantas representadas pelos números 15, 18 e 89, de 84%, 81% e 76%, respectivamente. As avaliações fenotípicas da população  $RC_1$ , das gerações segregantes derivadas da população  $RC_1$  e da população  $RC_2$  indicam, por meio das análises estatísticas, que os materiais genéticos avaliados dispõem de uma ampla variabilidade para as características agrônômicas, com excelentes expectativas de ganhos genéticos por meio da seleção. Por exemplo, as avaliações das características florais, na geração  $RC_1$ , possibilitaram a identificação de plantas menos responsivas às variações de temperatura entre as duas épocas de avaliação, ou seja, mais adaptadas, facilitando a tomada de decisão na seleção das plantas superiores para o avanço de gerações. Nas gerações segregantes, derivadas da população  $RC_1$ , por meio de autofecundações e de cruzamento, e do segundo retrocruzamento (população  $RC_2$ ), os resultados das estimativas dos parâmetros genéticos e os elevados ganhos genéticos obtidos, pelas diferentes estratégias de seleção, são indicativos de que os materiais genéticos segregantes avaliados dispõem de variabilidade genética para as características avaliadas e, portanto, são promissores para o avanço de gerações com uma expectativa de obtenção de linhagens superiores em curto e médio prazo. Portanto, foram recomendados o avanço de gerações com 30 plantas, selecionadas em um total de 345 plantas, contemplando todos os tratamentos segregantes.

## ABSTRACT

SILVA, FRANCISCO FILHO, D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, April of 2006. Classical and molecular approach for papaya (*Carica papaya* L.) breeding. Adviser: Messias Gonzaga Pereira. Comitee Members: Alexandre Pio Viana, Gonçalo Apolinário de Souza Filho and Telma Nair Santana Pereira.

The papaya (*Carica papaya* L.) breeding in Brazil, associated to good management may substantially contribute to yield increase and to improve the characteristics associated to fruit quality. This objective may be reached, in part, by mean of the access of basic information related to the inheritance of the main agronomic traits which are interested to improve, as well as by accessing the available genetic variability for breeding. Associated to the classical breeding procedures, the use of DNA markers brought an entire new perspective for the papaya crop by mean of the assisted breeding. Thus, the objective of this work was to conduct a sexual conversion of the 'Cariflora' genotype from the dioiceus (population with male and female plants) to the ginoic-andromonoic (population with female and hermaphrodite plants) by means of the introgression of the  $M^2$  allele, assisted by the DNA markers. Besides that, superior plants were selected on the BC<sub>1</sub> population for the advance of generation, possibiliting to estimate the genetic parameters and the genetic gains for the evaluated traits in segregating generations. A second objective of this investigation was to monitor the genetic variability in self-pollinated generations of a genitor from the 'Formosa' papaya group, by means of RAPD (Random Amplified fragment Polymorphic DNA)

markers. The obtained results indicated that the RAPD markers were efficient on the genetic discrimination, on the self-pollinated generations ( $C_1$ ,  $C_2$  and  $C_3$ ) of the 'Formosa' genitor of the 'UENF/CALIMAN 01' hybrid as well on the  $BC_2$  individuals, genetically closer to the recurrent genitor ('Cariflora'). The Chi square test (5% significance) applied on the study of the polymorphic markers of the  $C_1$ ,  $C_2$  and  $C_3$ , indicated that the reduction of the polymorphic markers from  $C_1$  (60) to  $C_2$  (23) and to  $C_3$  (17), is not significantly different from the expected that would be 60 ( $C_1$ ), 30 ( $C_2$ ) and 15 ( $C_3$ ). So, there is no reason to disagree that the polymorphism reduction a long of the self-pollinated cycles was of 50% in each generation. On the  $BC_2$  generation, the genetic divergence matrix, based on 54 RAPD markers, indicated a similarity between the recurrent genotype ('Cariflora') and the individuals 15, 18 and 89 of 84%, 81% and 76%, respectively. The phenotypic evaluations of the  $BC_1$  population, the segregating generations derivatives of  $RC_1$  population and  $RC_2$  population indicate, by mean of statistical analysis, that the evaluated genetic material reveals wide variability for the agronomic traits, with excellent expectations of genetic gains by means of selection. For example, floral characteristics on the  $BC_1$  generation may possibility the identification of individuals less responsives to the temperature variations between the two evaluated seasons, or yet, more adapted, facilitating the decision about the selection of superior plants to advancing the generations. On the segregating generations derived from the  $BC_1$ , by mean of self-pollination and crossing, and from the second backcrossing ( $BC_2$  population), the results of the genetic parameter estimates and the elevated obtained genetic gains, by the different selection strategies, are indicative that the segregating evaluated genotypes, contemplate genetic variability for the evaluated traits and, this, are promising to the generation advancing with an expectation of obtaining superior lines in short and medium period of time. So, 30 selected individuals from a total of 345 plants were recommended for advancing generation, contemplating all the segregating treatments.

## 1. INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma das fruteiras mais cultivadas e consumidas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (Chen *et al.*, 1991). Seus frutos são aromáticos, ricos em vitamina C, amplamente usados em dietas alimentares em razão do seu excelente valor nutritivo e digestivo. Os frutos verdes são usados como fonte de papaína, uma enzima proteolítica, amplamente usada nas indústrias têxteis, farmacêutica e de alimentos (Dantas, 2000).

De acordo com Hofmeyr (1938) e Storey (1938), a herança do sexo no mamoeiro é monogênica, com três alelos designados por  $m$ ,  $M^1$  e  $M^2$ . Storey (1953) estabeleceu que as combinações dominantes,  $M^1M^1$ ,  $M^2M^2$  e  $M^1M^2$  são, provavelmente, letais zigóticos. Segundo Storey (1941), os indivíduos portadores dos genótipos  $mm$ ,  $M^1m$  e  $M^2m$  são denominados ginóicos (femininos), andróicos (masculinos) e andromonóicos (hermafroditas), respectivamente.

As cultivares de mamoeiro em muitas partes do mundo são do tipo dióico (Arkle Junior e Nakasone, 1984), sendo os frutos femininos aproveitados para o consumo da fruta fresca ou para extração da enzima papaína. No Brasil, os frutos piriformes produzidos pelas plantas hermafroditas são favorecidos sobre os frutos esféricos produzido pelas plantas femininas, destinando-se aos mercados interno e externo. Contudo, deve ser ressaltada a limitação de alternativas para a escolha de variedades e/ou híbridos comerciais para o plantio que atendam tanto às exigências do mercado nacional quanto internacional (Marin *et al.*, 2003). Nesse contexto, o melhoramento genético dessa espécie por meio de hibridações e

estudos de capacidade combinatória, pode possibilitar a ampliação da sua base genética e superar tais limitações.

Cruz e Regazzi (1997) sugerem que estudos de capacidade combinatória, por meio de cruzamentos dialélicos pode contribuir substancialmente para o sucesso dos programas de melhoramento genético vegetal, por possibilitar tanto a identificação de progenitores para hibridação e de híbridos com qualidades superiores quanto auxiliar na identificação do método de seleção mais apropriado, por permitir que parâmetros genéticos sejam conhecidos *a priori*.

Associado aos procedimentos clássicos de melhoramento, o uso de marcadores de DNA trouxe uma perspectiva inteiramente nova para a cultura do mamoeiro por meio do melhoramento assistido. Os marcadores de DNA têm sido indicados como ferramentas úteis no melhoramento de plantas em diversas situações. São utilizados com sucesso na definição de grupos heteróticos em várias espécies vegetais, na caracterização de acessos de germoplasma e nos retrocruzamentos, aumentando a eficiência dos procedimentos de melhoramento.

Estudos conduzidos por Marin (2001), indicam que o genótipo dióico 'Cariflora' apresenta excelente capacidade geral e específica de combinação quando cruzado com genótipos do grupo Solo. Contudo, em se tratando de um material dióico, não há como aproveitá-lo para o desenvolvimento de progenitores endogâmicos uma vez que não é possível autofecundá-lo. Conseqüentemente, os híbridos resultantes são bastante heterogêneos.

O objetivo principal deste trabalho foi realizar a conversão sexual do genótipo 'Cariflora', do estado dióico (população com plantas femininas e masculinas) para o ginóico-andromonóico (população com plantas femininas e hermafroditas), por meio da introgressão do alelo  $M^2$ , responsável pelo hermafroditismo no mamoeiro. Este procedimento foi auxiliado pelos marcadores de DNA, na "genotipagem" da segunda geração de retrocruzamento, gerando a expectativa de recuperação de aproximadamente 95% do genoma do genitor recorrente (Cariflora). Paralelamente, foram selecionadas plantas superiores, nas gerações RC<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>, para o avanço de gerações e identificação de linhagens endogâmicas. Um segundo objetivo do trabalho foi monitorar a variabilidade genética em gerações de autofecundação em mamoeiro do grupo 'Formosa' via RAPD (Random Amplified Fragment Polymorphic DNA).



## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Aspectos sócio-econômicos da cultura do mamoeiro

De acordo com Marteletto (1997), a fruticultura apresenta uma série de vantagens econômicas e sociais, como elevação do nível de emprego, fixação do homem no campo, melhor distribuição de renda a nível regional, obtenção de produtos de elevado valor comercial e excelentes perspectivas de mercado interno e externo, gerando divisas, razões que justificam o apoio governamental para o seu desenvolvimento.

O mamão apresenta polpa saborosa, cujas características químicas e digestivas, fazem dessa fruta um alimento ideal e saudável para pessoas de todas as idades. Geralmente essa fruta é consumida *in natura*, mas sua industrialização por meio do aproveitamento integral do fruto oferece extensa gama de produtos e subprodutos, que podem ser utilizados na indústria de alimentos, farmacêutica e até na ração de animais (Hinojosa e Montgomery, 1988). Ainda, segundo esses autores, em outros países como Estados Unidos, Austrália, Índia, Panamá e Venezuela, dá-se preferência à produção de conservas ("cocktail" de frutas), geléias, sucos e néctares combinados com outras frutas tropicais e ainda industrializam esta fruta, para a obtenção do purê pelo processo asséptico ou na forma congelada. Porém, no Brasil, a produção de compotas e de purê asséptico em pequena escala e uma razoável produção de fruta cristalizada são os principais métodos de industrialização aplicados a fruta do mamoeiro, assim como a produção de papaína.

De acordo com os dados da FAO (Food and Agriculture Organization), em 2004, o Brasil foi o maior produtor mundial de mamão, seguido do México. A mesma organização, no período, mostra que o México, Malásia e Brasil foram, respectivamente, os principais exportadores. Os principais mercados importadores são: Holanda, Estados Unidos, Reino Unido, Portugal e Espanha (Boteon, 2005).

Em 2005, a abertura de novas regiões, como a Bahia e o Rio Grande do Norte, pode impulsionar as exportações brasileiras de mamão nos próximos anos. Dessa forma, o Espírito Santo, bem como a Bahia e o Rio Grande do Norte, serão os principais pólos exportadores do mamão no país. Nesse cenário, o Espírito Santo apresenta aproximadamente 10 mil hectares, segundo estimativas do próprio setor produtivo em 2005, e é o segundo maior produtor Brasileiro de mamão e o principal pólo exportador. Em segundo lugar, a Bahia se destaca como o maior pólo produtor de mamão do país, com aproximadamente 14 mil hectares (Boteon, 2005). Ainda, segundo este autor, o Rio Grande do Norte, nos últimos anos, tem atraído os grandes grupos produtores/exportadores de mamão. As maiores empresas já estão instaladas lá e estão aumentando as áreas próprias e incentivando a produção de terceiros.

Apesar de o Brasil se destacar como o maior produtor mundial de mamão, ainda existe limitação de alternativas para a escolha de variedades e/ou híbridos comerciais para o plantio que atendam tanto às exigências do mercado nacional quanto internacional. Aliado a isso, o elevado preço das sementes híbridas dos mamoeiros do grupo 'Formosa', geralmente importadas de Taiwan, por 2.500 a 3.000 dólares por quilograma, tem levado muitos fruticultores a utilizar plantios sucessivos com as gerações  $F_2$ ,  $F_3$  e  $F_4$  do híbrido 'Tainung 01', acarretando inúmeros problemas, sobretudo, com a perda de vigor e segregação para o formato do fruto (Marin et al., 2003). Visando contornar este problema, a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) estabeleceu, a partir de 1996, um programa de melhoramento genético do mamoeiro, que tem como principal objetivo o desenvolvimento de genótipos superiores, capazes de contribuir substancialmente com o agronegócio do mamão. Com a parceria da PESAGRO-RIO e da CALIMAN Agrícola S/A (maior produtora e exportadora de mamão do Brasil) e o apoio financeiro da FAPERJ e FINEP, o programa tem gerado bons resultados, culminando em 2002 com o registro de nove híbridos de mamão junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Pereira et

al., 2003) e no lançamento do primeiro híbrido nacional do grupo 'Formosa' ('UENF/Caliman 01'), em 2003.

De acordo com o coordenador dos projetos "Frutimamão I e II", professor Messias Gonzaga Pereira (comunicação pessoal), este híbrido permitirá ao Brasil economizar, potencialmente, cerca de US\$ 2 milhões por ano em material genético importado. Além dessa economia, os riscos de introdução de novas pragas na cultura, associado a sementes importadas, será substancialmente minimizado.

## 2.2. Classificação botânica

O mamoeiro cultivado comercialmente (*Carica papaya* L.) é uma planta herbácea, pertencente à classe Dicotyledoneae, subclasse Archichlamydeae, ordem Violales, subordem Caricineae, família Caricaceae e gênero *Carica* (Joly, 1993).

Atualmente, *Carica papaya* L. é cultivado em todos os países tropicais e regiões subtropicais do mundo. Até recentemente, a família *Caricaceae* era considerada compreendendo 31 espécies em três gêneros (*Carica*, *Jaracatia* e *Jarilla*) da América tropical e um quarto gênero, *Cylicomorpha*, da África equatorial (Nakasone e Paull, 1998). Contudo, uma revisão taxonômica mais recente propõe que algumas espécies formalmente distribuídas no gênero *Carica* sejam classificadas no gênero *Vasconcella* (Badillo, 2002). Dessa forma, a classificação da família *Caricaceae* tem sido revisada para compreender *Cylicomorpha* e cinco gêneros das Américas do Sul e Central (*Carica*, *Jaracatia*, *Jarilla*, *Horovitzia* e *Vasconcella*) (Badillo, 1971), com *Carica papaya* sendo a única espécie dentro do gênero *Carica* (Badillo, 2002).

Com 21 espécies, o gênero *Vasconcella* é o mais importante dentro da família *Caricaceae*. Além do seu uso como frutos comestíveis, que são principalmente coletados nas espécies silvestres – embora *V. cundinamarcensis* e *V. x heilbornii* 'Babaco' sejam freqüentemente cultivadas em escala comercial – ele ainda possui um grande potencial para ser utilizado como fonte da enzima proteolítica papaína e como uma fonte de genes em programas de melhoramento do mamoeiro (*C. papaya* L.) (Sheldeman et al., 2003). Todas as espécies da família são diplóides, com  $2n = 2x = 18$  cromossomos (Darlington e Ammal,

1945) e todas são estritamente dióicas, com exceção de *V. monóica*, *V. pubescens* e *C. papaya*.

O centro de origem do mamoeiro é discutido há muitos anos, pois a maioria dos membros do gênero *Carica* (recentemente reabilitados dentro do gênero *Vasconcella*) ocorre ao longo da cordilheira dos Andes, desde o Sul da Bolívia e Peru até a Venezuela, em uma área que forma o centro primário de diversidade do gênero (Aradhya et al., 1999). Embora haja opiniões divergentes quanto à origem de *C. papaya* na América Tropical, é provável que esta espécie tenha se originado nas terras baixas da América Central oriental, do México ao Panamá (Nakasone e Paull, 1998).

## **2.3. Aspectos reprodutivos**

### **2.3.1. Tipos florais**

As flores do mamoeiro têm sido classificadas de diferentes modos, por diversos autores, devido à grande quantidade de formas florais conhecidas. Nesse aspecto, o mamoeiro apresenta um polimorfismo muito grande, podendo apresentar até 32 diferentes variações de suas formas florais (Simão, 1971).

Para efeitos práticos, os tipos de flores que ocorrem com maior frequência nos mamoeiros podem ser resumidos a seguir, de acordo com citações de Couto e Nacif (1999); Dantas e Castro Neto (2000) e Marin (2001).

#### *1) Flor masculina*

Ocorrem em pedúnculos longos, inseridos nas axilas das folhas da parte superior do mamoeiro, muito distantes da junção do pecíolo com o caule.

A flor estaminada é caracterizada pela ausência de estigma e pelo tubo da corola estreito e muito longo, terminando em cinco pétalas livres em sua extremidade. No interior deste, encontram-se os órgãos masculinos e femininos. O masculino é constituído por cinco pares de estames funcionais, soldados às pétalas e dispostos em duas séries de verticilos, sendo cinco superiores e cinco inferiores. O feminino possui ovário muito rudimentar e, geralmente, estéril, sem estigma, incapacitando as plantas de produzirem frutos. Os mamoeiros-machos produzem somente flores estaminadas durante todo o ano, porém, elas podem em determinadas épocas, produzir flores hermafroditas férteis – geralmente alongadas

– possibilitando o desenvolvimento de frutos, denominados de “mamões-de-corda”, “mamões-machos” ou “mamões-de-cabo”.

## 2) *Flor feminina*

A flor feminina, também conhecida como flor *pistilada* ou *unissexual feminina*, é grande, formada por pedúnculos curtos nas axilas das folhas, com freqüência individual, mas também presentes em pequenos agrupamentos cimosos, composto por duas a três flores. A flor é do tipo pentâmero, com cálice gamossépalo e corola dialipétala. Internamente só apresenta o órgão feminino, que é constituído de um ovário grande e arredado, que se afunila para o ápice, onde se inserem cinco estigmas sésseis em forma de leque. As flores não têm estames, nem rudimentos de estames. Originam frutos arredondados, oblongos ou ligeiramente obovados, apresentando cavidade interna grande em relação à espessura da polpa.

As plantas que apresentam flores pistiladas são denominadas “mamoeiros femininos” e, apesar de serem mais produtivas do que as plantas do sexo masculino e hermafrodita produzem frutos de menor valor comercial devido à menor espessura de sua polpa.

## 3) *Flor hermafrodita*

A flor hermafrodita do mamoeiro não constitui um tipo único e definido, mas um grupo que inclui muitas formas, a exemplo da pentândrica, intermediária e alongata. As duas primeiras flores são formas anômalas e dão origem a frutos deformados, sem valor comercial e conhecidos, respectivamente, por frutos pentândrico e carpelóide (cara-de-gato). A flor hermafrodita alongata é a típica flor perfeita, de onde se origina o fruto de valor comercial.

As flores hermafroditas ocorrem, normalmente, em pedicelos ou pedúnculos curtos, nas axilas foliares de mamoeiros hermafroditas ou, ocasionalmente, em pedúnculos longos originários das axilas de mamoeiros masculinos. O órgão feminino é constituído de um ovário, geralmente alongado, sendo possível encontrar variações de piriforme a cilíndrico, possuindo cinco estigmas em forma de leque, no ápice. O órgão masculino é distinguido pela presença de cinco a dez estames funcionais, com anteras de coloração amarela.

### 2.3.2. Herança do sexo

O mamoeiro é uma espécie polígama com três tipos de sexo: masculino, hermafrodita e feminino. De maneira geral, plantas hermafroditas são preferíveis para produção comercial. Nessa espécie o sexo da planta é controlado por um único gene maior com três alelos; um alelo dominante para plantas masculinas, um alelo dominante diferente para plantas hermafroditas e um alelo recessivo para plantas femininas (Hofmeyr, 1938; Storey, 1938, 1976; Sondur *et al.*, 1996).

Hofmeyr (1938) adotou os símbolos  $m$  para o alelo que determina feminilidade,  $M^1$ , para o alelo que determina masculinidade e  $M^2$ , para o alelo que determina o hermafroditismo. Segundo Storey (1941), os indivíduos portadores dos genótipos  $mm$ ,  $M^1m$  e  $M^2m$ , são denominados ginóicos (femininos), andróicos (masculinos) e andromonóicos (hermafroditas), respectivamente. Por outro lado, de acordo com Storey (1953), as combinações  $M^1M^1$ ,  $M^1M^2$  e  $M^2M^2$  são, provavelmente, letais zigóticos, não ocorrendo na natureza. A única forma homocigota viável é  $mm$ . Indivíduos portadores dos genótipos  $mm$ ,  $M^1m$  e  $M^2m$  são denominados ginóicos, andróicos e andromonóicos, respectivamente. Embora um modelo mais complexo para determinação do sexo em papaya tenha sido publicado mais tarde (Storey, 1953), a hipótese original permanece válida e está suportada por dados de campo acumulados.

Uma hipótese proposta por Hofmeyr (1967) sugere que a determinação do sexo em plantas de mamoeiro envolve balanço gênico. De acordo com essa hipótese, os alelos  $M^1$  e  $M^2$  representam regiões inertes ou desativadas, de tamanho variado, encontradas nos cromossomos sexuais. Em razão disso, os genótipos  $M^1M^1$ ,  $M^1M^2$  e  $M^2M^2$  não são encontrados devido à letalidade zigótica. Por outro lado, a região homóloga  $m$  é normal e os genótipos viáveis são  $mm$  (planta feminina),  $M^1m$  (planta masculina) e  $M^2m$  (planta hermafrodita). Ainda, segundo este autor, a grande concentração de genes para feminilidade está nos cromossomos sexuais, enquanto que para masculinidade está nos autossomos. Portanto, o genótipo  $mm$  é pistilado e sua combinação homocigota confere estabilidade fenotípica. Uma vez que  $M^1$  representa uma longa região inerte, ela se expressa fenotipicamente como estaminada, em função de sofrer uma grande influência dos genes autossomais. A região  $M^2$ , menor que a  $M^1$ , sofre menor influência dos genes autossomais e, portanto, se expressa como andromonóica. Dessa forma, a heterocigotidade dos genótipos  $M^1m$  (planta masculina) e  $M^2m$

(planta hermafrodita) torna-os vulneráveis a alterações na expressão sexual, devido aos fatores ambientais.

Storey (1953) propôs a presença de dois genes supressores: **sa** e **sg**. O gene **as**, quando em homozigose, tem efeito na supressão completa do androceu, como ocorre nas plantas femininas, e pode, quando em heterozigose e sob determinadas condições ambientais, promover a supressão parcial em plantas estaminadas e hermafroditas. O gene **sg**, quando em homozigose, tem efeito completo na supressão do gineceu, e pode, quando em heterozigose e sob determinadas condições ambientais, afetar a supressão parcial do gineceu.

Horovitz e Jimenez (1967) trabalhando com outras espécies de *Carica*, além de *Carica papaya* L., propuseram uma hipótese similar à de Hofmeyr (1938) e Storey (1941), usando a terminologia de cromossomo sexual X, Y e Z, em que XX representa planta feminina,  $XY^1$  planta masculina,  $XY^2$  planta hermafrodita (somente em *Carica papaya*) e ZZ em espécies monóicas. Nos híbridos provenientes do cruzamento entre espécies dióicas e monóicas, o genótipo XZ pode ser monóico ou pistilado, dependendo da planta pistilada usada como progenitor. As combinações  $Y^1Y^1$ ,  $Y^1Y^2$  e  $Y^2Y^2$  são letais. Essa hipótese também postula que o cromossomo Z, homólogo ao X e ao Y, contém um gene **F** que controla a expressão da feminilidade (ginoícia) e um gene **Am** que controla a expressão da masculinidade (androícia).

Mediante recentes avanços no entendimento da regulação gênica e desenvolvimento floral, Sondur *et al.* (1996) sugeriram um modelo do tipo de sexo baseado em três alelos alternativos de um gene codificando um fator com ação em *trans*. Dessa forma, o alelo para masculinidade do gene responsável pela determinação do sexo, designado *SEX1-M*, codifica um fator de ação em *trans* que induz o desenvolvimento de partes florais masculinas e inibe o desenvolvimento dos carpelos. O alelo que promove o hermafroditismo, *SEX 1-H*, é intermediário e tem a capacidade de induzir estruturas masculinas e somente reduzir o tamanho do carpelo. O alelo para feminilidade, *sex 1-f*, é incapaz de induzir estruturas masculinas. A letalidade do *SEX 1-M* ou *SEX 1-H* em homozigose pode resultar de uma função requerida adicionalmente presente apenas no alelo *sex1-f*, ou um gene ligado muito próximo, embora uma mutação letal fortemente ligada aos alelos *SEX 1-M* e *SEX 1-H* não pode nesse momento, ser descartada.

Segundo esses autores, a variabilidade observada na expressão das características sexuais secundárias pode estar relacionada aos efeitos de interações ambientais ou alélicas na expressão ou função do *Sex 1*. Dessa maneira, é possível que a interação entre *SEX 1-H* e o seu alvo, uma seqüência promotora ou outro fator protéico, possa apresentar uma menor estabilidade do que uma interação entre o *SEX 1-M* e o seu alvo. Isso pode contribuir para a diferença no tamanho dos carpelos entre flores hermafroditas e masculinas, e para a reversão do sexo, algumas vezes percebido nas flores hermafroditas e raramente nas flores masculinas.

Liu et al. (2004), utilizando marcadores moleculares, concluíram que o mamoeiro tem um cromossomo Y primitivo com uma região masculina específica que corresponde a 10% do cromossomo e que sofre supressão de *crossing over* e degeneração da seqüência de DNA.

### 2.3.3. Tipos de cruzamentos

Em *Carica papaya* L., os cruzamentos podem ocorrer entre os três tipos sexuais, por meio da ação do vento, de insetos, ou do próprio homem, conforme descrito por Hofmeyr (1938):

#### a) *Flor feminina x flor masculina*

Se o pólen de flores de mamoeiros do sexo masculino fecundar flores de mamoeiros do sexo feminino, serão gerados frutos cujas sementes poderão originar 50% de plantas masculinas e 50% de plantas femininas, aproximadamente. A manutenção desse elevado número percentual de plantas masculinas, em uma lavoura comercial, acarretará prejuízo ao produtor, que será tanto maior quanto maior for a área cultivada e o tempo que elas permanecerem competindo com as demais por água, luz e nutrientes.

#### b) *Flor feminina x flor hermafrodita*

Se o pólen de flores de mamoeiros hermafroditas fecundar flores de mamoeiros do sexo feminino, serão gerados frutos cujas sementes obtidas deverão dar origem a 50% de plantas hermafroditas e 50% femininas. Esse tipo de cruzamento também não é desejável em plantios comerciais, devido à excessiva proporção de plantas femininas. Essas, embora produtivas, produzem



frutos de formato arredondado a ovalado, cuja cavidade interna é grande em relação à espessura da polpa, característica que geralmente lhes confere menor valor comercial.

c) *Flor hermafrodita x flor masculina*

Quando o pólen de flores de mamoeiros do sexo masculino fecundar flores de mamoeiros hermafroditas, as sementes obtidas, normalmente, produzirão cerca de 33,3% de plantas masculinas, 33,3% de hermafroditas e 33,3% de femininas. Esse cruzamento é indesejável em cultivos comerciais, porque origina plantas masculinas improdutivas e plantas femininas com frutos de baixo valor comercial, na proporção de 1/3:1/3, respectivamente.

d) *Flor hermafrodita x flor hermafrodita*

Flores de mamoeiro hermafrodita ao serem fecundados pelo seu próprio pólen (autofecundação), ou pelo pólen de outras flores hermafroditas, provenientes destas ou de outras plantas, produzirão sementes que, por sua vez, deverão originar em torno de 66,6% de plantas hermafroditas e 33,3% de plantas femininas. Dos quatro tipos de cruzamentos possíveis, esse apresenta a grande vantagem de gerar uma maior proporção de mamoeiros produtivos e com frutos de maior valor comercial.

#### **2.3.4. População com base na expressão do sexo**

De acordo com Horovitz (1954), o mamoeiro apresenta plantas unissexuais masculinas, unissexuais femininas e hermafroditas, de modo que as populações oriundas desses diferentes tipos de indivíduos distinguem-se em:

a) *populações dióicas* – somente plantas com flores femininas (ginóica) e plantas com flores masculinas (andróicas). As plantações de mamoeiros dióicos são originários dos cruzamentos de plantas do sexo masculino com plantas do sexo feminino. As sementes coletadas dos frutos desses mamoeiros deverão produzir plantas dos dois sexos em igual proporção, caso o pólen da flor masculina fecunde a feminina. Nesse tipo estão os mamoeiros conhecidos como “Comum”, “Paulista”, “Monte Alto”, “Goiano”, “Caiano”, “Caianinho”, “De-derrubada”, “Mamão-de-quintal”, “De veado”, “Mamão-de-passarinho”, “De cabo”, dentre outros;

- b) *populações ginóicas-andromonóicas* – constituída por plantas com flores femininas e plantas com flores hermafroditas (andromonóicas). As plantações de mamoeiros ginóico-andromonóicos são originárias dos cruzamentos entre plantas hermafroditas, que são capazes de se autofecundar porque apresentam os órgãos masculino e feminino na mesma flor. Vale ressaltar, que em condições de campo, um mamoeiro hermafrodita pode não se autofecundar, podendo receber pólen de outro hermafrodita ou mesmo masculino (dióico) que estiver nas proximidades. As sementes oriundas do cruzamento de mamoeiros hermafroditas deverão originar plantas hermafroditas e femininas, em uma proporção de 2:1, respectivamente. Nesse tipo, é encontrado as cultivares do grupo ‘Solo’ ou ‘Mamão Havaiano’ e do grupo ‘Formosa’. Esse último grupo é representado pelo híbrido ‘Tainung’ ou ‘Mamão Formosa’, além de outros materiais genéticos como ‘Tailândia’, ‘Costa Rica’, ‘Maradol’, ‘JS 11’ e ‘JS 12’, normalmente de valor comercial e de importância relevante para o mercado interno e externo;
- c) *populações andromonóicas-trióicas* – nas quais encontramos plantas com flores femininas, plantas com flores hermafroditas e plantas com flores masculinas.

### 2.3.5. Fatores não genéticos envolvidos na expressão do sexo

Os fatores determinantes do fenótipo sexual em plantas são diversos, abrangendo desde os cromossomos sexuais em *Marchantia polymorpha* e *Silene latifolia* a regulação hormonal em *Zea mays* e *Cucumis sativa* (Tanurdzic e Banks, 2004).

De acordo com Lionakis (1985), a fisiologia da determinação sexual ainda não está claramente entendida, entretanto, é geralmente aceito que todas as plantas têm potencial para desenvolver órgãos sexuais de ambos os sexos, existindo um conjunto de mecanismos determinadores para uma ou outra das duas possíveis cadeias de eventos, uma levando ao desenvolvimento de órgãos sexuais femininos e a outra de masculinos.

O controle genético da determinação sexual em plantas dióicas pode ser extremamente variado. Algumas espécies dióicas têm cromossomos sexuais heteromórficos (p. ex., *Silene latifolia*), enquanto em outras espécies o sexo é determinado por um ou vários *locos* autossômicos, possivelmente influenciados por genes citoplasmáticos (Durand e Durand, 1991). Da mesma forma, a regulação hormonal não parece seguir um padrão bem estabelecido. Em

*Mercurialis*, por exemplo, as citocininas causam a conversão de macho para fêmea (Louis, 1989), enquanto em *Asparagus officinalis*, um efeito oposto tem sido observado (Bracale et al., 1991).

Segundo Frankel e Galun (1977), em plantas hermafroditas, estão presentes os genes para ambos os tipos de órgãos florais e estes são funcionais. Contudo, a determinação do sexo está em função não somente da presença do gene, mas também da sua expressão, que depende do tempo e do local em que agirão, resultando em um tipo específico de morfogênese. Ainda, segundo os autores, os principais fatores ambientais que afetam a expressão sexual dessas plantas são: nutrição mineral, fatores edáficos, luz, temperatura e agentes químicos.

No mamoeiro, variações de flores hermafroditas alongadas (normais) para as formas carpelóides, pentândricas e femininas estéreis ocorrem em plantas hermafroditas. No inverno, onde as baixas temperaturas noturnas prevalecem, os estames são transformados em estruturas semelhantes aos carpelos, as quais são chamadas de carpeloidia dos estames. Outros fatores que promovem a carpeloidia dos estames são a alta umidade do solo, alta umidade relativa do ar e elevados níveis de nitrogênio (Awada, 1953; Arkle Junior e Nakasone, 1984). Vale ressaltar que, flores carpelóides também podem aparecer durante os meses mais quentes do ano, induzidas por mudanças de temperatura (EMBRAPA, 2000; citado por Damasceno Junior, 2004). Por outro lado, a supressão do ovário, em flores hermafroditas, ocorre em flores iniciadas durante os meses de verão, onde ocorrem as altas temperaturas (Awada, 1958; Storey, 1941). Baixos níveis de nitrogênio e estresse hídrico também favorecem a esterilidade feminina (Awada, 1953; Awada, 1958).

O mamoeiro é uma planta exigente em água. Porém, a umidade requerida varia de local para local, de acordo com a precipitação pluviométrica, temperatura do ar, vento, tipo de solo, altitude e idade da planta. A restrição hídrica durante um período prolongado reduzirá o crescimento e incrementará a reversão sexual, resultando em baixa produção (Medina et al., 1980; citado por Damasceno Junior, 2004). Dessa forma o ideal seria uma precipitação abundante e bem distribuída ao longo do ano. Por outro lado, solos com elevado teor de umidade disponível pode contribuir para o aumento de flores carpelóides (Awada e Ikeda, 1957).

De todos os fatores que afetam as mudanças de sexo, a temperatura é, talvez, o mais importante fator isolado. De acordo com Nakasone e Paull (1998), a temperatura ótima para o crescimento de mamoeiro está entre 21 e 33°C, sendo extremamente sensível ao frio e, se a temperatura cair abaixo de 12-14°C por muitas horas à noite, o crescimento e a produção são drasticamente afetados. Cultivares dióicas são mais adaptadas a baixas temperaturas (<20°C), pois plantas femininas não apresentam mudanças de sexo, o que mostra uma maior sensibilidade dos cultivares hermafroditas à carpeloidia. Cultivares hermafroditas (tipo Solo), crescendo com temperaturas mínimas menores que 17°C, podem ter 100% de flores carpeloides. Em temperaturas altas (>35°C), existe uma tendência nas plantas hermafroditas para formar flores femininas estéreis pouco desenvolvidas. Essa tendência varia com os cultivares e dentro dos cultivares. Ainda, segundo esses autores, a taxa fotossintética líquida também declina rapidamente acima de 30°C.

Alguns reguladores de crescimento, tais como as auxinas, que promovem o desenvolvimento vegetativo, causam hipertrofias do cálice e gineceu (Resende, 1967). De acordo com Bennett e Hughes (1972), citados por Frankel e Galun (1977), em trigo, a aplicação de 2-chloroethylphosphonic suprimiu completamente a diferenciação da antera, e por isso, a aplicação deste composto nestas plantas foi indicada como um método para produção, em pequena escala, de sementes híbridas.

#### **2.4. Aspectos gerais do melhoramento genético do mamoeiro**

Os trabalhos de melhoramento genético do mamoeiro realizados há alguns anos, em vários países, têm como base os estudos feitos por Hofmeyr (1938), Storey (1938), Awada (1953), Horovitz (1954) e outros.

De acordo com Hofmeyr (1938), Storey (1953) e Horovitz (1954), existe uma grande diversidade de tipos de mamoeiro no mundo, com características aproveitáveis em um programa de melhoramento. Contudo, existem poucas linhagens realmente melhoradas ou mesmo consideradas como variedades definidas, em função da propagação de plantas por sementes, durante sucessivas gerações, sem o devido controle das polinizações.

O melhoramento genético do mamoeiro pode contribuir consideravelmente para uma maior produtividade. Essa meta pode ser alcançada

pela aplicação de métodos de melhoramento e seleção de variedades com rendimentos superiores, bem como por meio da obtenção de linhagens ou híbridos resistentes a pragas e doenças, o que indubitavelmente contribuirá de forma decisiva no melhoramento da cultura, limitada em grande escala pela ampla incidência e distribuição de doenças viróticas (Harknesss, 1967; Ishii e Holtzmann, 1963).

Conforme Sampaio *et al.* (1983), o melhoramento genético do mamoeiro, nas regiões em que é cultivado, está basicamente voltado para a geração de cultivares endogâmicas. A não exploração do vigor híbrido, de um modo geral, parece ser conseqüência de insuficientes investigações sobre o efeito da heterose no mamoeiro.

Como o mamoeiro pode ser autopolinizado sem riscos de perda de vigor, o sistema de seleção geralmente utilizado é o da hibridação de materiais genéticos selecionados entre diversas variedades e linhagens, seguida de procedimentos de seleção por autofecundação e retrocruzamentos (Storey, 1941).

De modo geral, conforme o tipo de fruto, as cultivares mais plantadas no Brasil são classificadas em dois grupos: Solo (ex.: 'Sunrise Solo' e 'Improved Sunrise Solo Line 72/12') e Formosa ('Tainung nº 1'). Além do problema inerente a esta estreita base genética, o que implica vulnerabilidade às doenças, pragas e variações edafoclimáticas, o elevado preço e a dificuldade de obtenção de sementes do híbrido F1 comercial do grupo Formosa constituem fatores limitantes para a expansão da cultura (Oliveira *et al.*, 1994).

Evidencia-se, portanto, a necessidade de fortalecer os programas de melhoramento genético, que com objetivos a curto, médio e longo prazo, contribuam na ampliação da base genética atual, gerem variedades com tolerância ou resistência as principais doenças como o vírus da mancha anelar e meleira, além de apresentarem características agronômicas desejáveis, visando satisfazer as exigências do mercado interno e externo (Pérez, 2004).

Até recentemente, não havia no Brasil um programa de melhoramento genético para a cultura do mamoeiro, apesar de várias tentativas terem sido feitas, porém esses programas não tiveram continuidade. Seguindo essa tendência, a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) estabeleceu, a partir de 1996, um programa de melhoramento genético do mamoeiro. Os resultados têm sido promissores, possibilitando em 2002, o registro

de nove híbridos de mamoeiro (UENF/Caliman 01 a UENF/Caliman 09) (Pereira et al., 2003) e no lançamento do primeiro híbrido nacional, intermediário entre o grupo 'Solo' e o grupo 'Formosa' ('UENF/Caliman 01'), em 2003. Ainda, segundo Pereira et al. (2003), esses híbridos têm demonstrado superioridade em relação ao híbrido Formosa *Tainung 01* quanto às características do fruto. Quanto à produtividade total, os híbridos UENF/Caliman têm apresentado uma equivalência com o material importado. A introdução desse novo material genético ('UENF/Caliman 01') deverá aumentar significativamente a área plantada com um tipo de mamoeiro intermediário entre o grupo 'Solo' e o grupo 'Formosa', com boa performance produtiva, frutos com excelentes características qualitativas (Brix) e com alto aproveitamento de tipos desejáveis para exportação. Vale ressaltar ainda que, o Norte do Estado do Rio de Janeiro, considerando as condições edafo-climáticas similares ao Norte do Estado do Espírito Santo, constitui uma região com grande potencial de expansão da cultura do mamoeiro. Também, deve ser considerada a proximidade de porto e aeroporto internacionais, além do grande potencial para consumo interno.

A carpeloidia, a esterilidade e pentandria constituem os principais problemas relacionados à produção do mamoeiro. Contudo, de uma maneira geral, as características agrônômicas desejáveis a serem consideradas no melhoramento desta cultura são as seguintes (Marin, 2001):

- a) Vigor
- b) Altura da planta e altura das primeiras flores
- c) Pentandria
- d) Ocorrência de flores carpelóides
- e) Ocorrência de flores femininas estéreis
- f) Capacidade de produção
- g) Tamanho, peso e forma do fruto
- h) Textura da casca
- i) Tamanho, forma da cavidade ovariana interna e espessura da polpa
- j) Qualidade da polpa

## **2.5. Importância dos marcadores genéticos**

Antes do advento das técnicas de biologia molecular, os estudos genéticos eram realizados com base em marcadores morfológicos gerados por

mutações simples em um gene particular, gerando alterações fenotípicas de fácil identificação visual no organismo. Contudo, o número reduzido de marcadores fenotípicos disponíveis, a ausência de ligação destes com caracteres de importância econômica e os efeitos deletérios das mutações limitaram sua utilização (Guimarães e Moreira, 1999; citado por Lanza *et al.*, 2000). Em seguida vieram os marcadores isoenzimáticos possibilitando que o número de marcadores genético fosse aumentado em pelo menos uma magnitude, aplicando-se potencialmente para todas as espécies de plantas (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Apesar de passadas várias décadas, desde sua descoberta, os marcadores bioquímicos continuam a ser empregados em estudos de populações naturais, como nos trabalhos de Sebbenn (2001) e Conte (2004), referente a populações de jequitibá-rosa (*Cariniana legalis*) e palmito juçara (*Euterpe edulis*), respectivamente.

Com o surgimento da técnica de PCR (Reação em cadeia pela polimerase) na década de 80, concomitantemente à descoberta de novos marcadores de DNA, vieram novas possibilidades de aplicações, tendo em vista a maior facilidade de geração de dados que promoveu um aumento do número de locos e do número de indivíduos amostrados (Rumin, 2005). Os marcadores de DNA surgiram devido à necessidade da detecção de polimorfismo genético diretamente no DNA e representam o terceiro grupo de marcadores. Um marcador molecular pode ser definido como todo e qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso, como no caso das isoenzimas, ou de um segmento específico de DNA (correspondente a regiões expressas ou não do genoma). A seqüência de nucleotídeos e a função de um marcador molecular podem ou não ser conhecidas e, em geral são desconhecidas. Quando um marcador molecular se comporta de acordo as leis básicas de Mendel, este deve ser adicionalmente definido como marcador genético. Essa distinção é feita, por exemplo, por meio do estudo do comportamento do marcador em uma população segregante. Portanto, é importante salientar que, ao contrário do que se supõe freqüentemente, o fato de o marcador ser DNA, não implica em que se constitua em um marcador “genético” (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Os marcadores genéticos, de maneira geral foram muito úteis nos estudos de estrutura de populações naturais. A identificação do sistema reprodutivo destas populações, sobretudo no caso das espécies arbóreas

tropicais, tem sido possível por meio do uso dos marcadores genéticos. As informações geradas permitem um maior entendimento da dinâmica destas populações, fornecendo as diretrizes para o adequado manejo das populações e conservação das espécies (Alves, 2003; Ribas, 2003; Zucchi et al., 2003; citados por Rumin, 2005).

Na genética e no melhoramento de plantas, os marcadores moleculares podem ser utilizados para diversos fins. Têm sido usados para sinalização de genes de resistência a doenças e pragas; avaliação e caracterização de germoplasma; melhoramento dos progenitores de híbridos; introgressão gênica e seleção auxiliada por marcadores; determinação de grupos heteróticos e associação com regiões genômicas que afetam a heterose; elaboração de mapas genéticos de ligação; reconstituição de pedigrees; testes de pureza genética; estudos de interação genótipo-ambiente (Ferreira e Grattapaglia, 1998; Milach, 1998a; 1998b); mapeamento de QTLs (locos de características quantitativas) (Pereira e Lee, 1995; Kumar, 1999; Paterniani, 2001); entre outros.

Dentre as aplicações anteriormente citadas, sem desconsiderar as demais, a seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) tem promovido grande impacto no melhoramento de plantas, possibilitando a identificação de genótipos superiores em populações segregantes e, sobretudo, reduzindo o tempo necessário para a liberação de novos materiais genéticos para o cultivo. Nesse contexto, de acordo com Ferreira e Grattapaglia (1998); Openshaw *et al.* (1994), citado por Lanza *et al.* (2000), a utilização destes marcadores em programas de introgressão gênica via retrocruzamento é talvez a aplicação mais concreta atualmente da tecnologia dos marcadores moleculares no melhoramento.

## **2.6. Utilização dos marcadores moleculares no melhoramento de plantas**

A seguir, serão apresentadas algumas das principais aplicações dos marcadores moleculares no melhoramento genético de plantas.

### **2.6.1. Caracterização de acessos e descrição de variedades**

De acordo com Valls (1988), citado por Rumin (2005), o processo de caracterização e avaliação de recursos genéticos pode ser grandemente enriquecido por atividades adicionais de caracterização bioquímica. A



caracterização molecular permite a discriminação de acessos em bancos ou coleções de germoplasma, em espécies em que a aplicação dos descritores morfológicos e fenológicos é retardada pelo crescimento muito lento ou pela demora em alcançar a fase reprodutiva. Entre outras aplicações da caracterização bioquímica tem-se a identificação de duplicações e a prospecção da variabilidade intrínseca ou entre acessos de uma mesma espécie.

A pupunha (*Bactris gasipaes*), uma palmeira nativa da Amazônia, foi domesticada pelos índios em tempos remotos, existindo uma hierarquia complexa de raças primitivas dessa espécie. De acordo com a classificação baseada em caracteres morfológicos existem três raças de pupunha: Pará, Solimões e Putumayo (Rumin, 2005). Contudo, o trabalho de Clemente et al. (2002), utilizando marcadores AFLPs para classificar variedades tradicionais de pupunha, reorganizou os acessos em dois grupos, Pará e Putumayo. Dessa forma, ficou evidenciado que a raça Solimões não existe, representando um subgrupo da raça Putumayo.

As técnicas de marcadores moleculares para caracterizar e identificar cultivares, apesar de ainda não serem reconhecidas como metodologia oficial, vêm sendo utilizadas para se obter informações adicionais em alguns processos de descrição de cultivares para fins de proteção. Nesse contexto, os marcadores microssatélites possuem propriedades que os tornam extremamente apropriados para a caracterização de cultivares. Variações nas regiões dos microssatélites resultam em elevado número de alelos detectados por loco genético, apresentando grande poder discriminatório. Por isso mesmo, normalmente poucos locos garantem a completa diferenciação dos genótipos de interesse, o que é vantajoso, considerando-se a necessidade de discriminação de cultivares geneticamente muito próxima (Schuster et al., 2006).

### **2.6.2. Estudos de diversidade genética**

Por meio dos marcadores moleculares é possível gerar uma grande quantidade de informações sobre a diversidade genética e relacionamento filogenéticos no germoplasma utilizado pelo melhorista. Geralmente, estes dados são obtidos na forma de uma matriz composta por um certo número de genótipos, “genotipados” para algumas dezenas ou centenas de marcadores moleculares que podem ser de diversos tipos (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Dentre as etapas de um programa de melhoramento genético que podem ser auxiliadas pelos marcadores moleculares, algumas requerem uma avaliação da divergência genética entre os genótipos, como é o caso da seleção de genitores, predição de híbridos e alocação de linhagens em grupos heteróticos. O pressuposto básico para utilização dessas estratégias é o de que os marcadores moleculares possibilitam uma ampla amostragem do genoma, o que dependerá do número e da natureza dos marcadores. Para estudos de diversidade genética, os marcadores podem ser classificados quanto ao conteúdo de informação alélica que possuem, e que está diretamente relacionado ao número e à frequência dos alelos do loco marcador, na população em estudo. Para cada tipo de marcador molecular, vários coeficientes de similaridade ou de dissimilaridade estão disponíveis, gerando sempre dúvidas sobre quais seriam os mais adequados (Guimarães et al., 2006).

Godshalk et al. (1990), após avaliar linhagens endogâmicas de milho e o desempenho de seus híbridos por meio de marcadores RFLP, sugeriram que este marcador é útil na alocação de linhagens em grupos heteróticos distintos. Os autores também concluíram que RFLPs apresentam grande potencial para a identificação de combinações superiores de linhagens endogâmicas oriundas de diferentes grupos heteróticos.

Stuber (1994) faz uma abordagem sobre a importância da heterose e da necessidade de se desenvolver métodos confiáveis para identificar e mapear fatores genéticos desejáveis em linhagens e populações divergentes, realizar a introgressão destes fatores em linhagens elite e prever o comportamento de híbridos sem a necessidade de testar todas as combinações possíveis. Nesse contexto, dados oriundos de marcadores moleculares têm sido muito úteis no estabelecimento de grupos heteróticos entre linhagens de diversas espécies.

Na cultura da bananeira, Creste et al. (2004) caracterizaram genótipos diplóides e triplóides, pertencentes a um Banco de Germoplasma de *Musa spp.*, utilizando marcadores microssatélites. Os autores enfatizam a utilidade desses marcadores para analisar a variabilidade genética e a distribuição desta variabilidade dentro do germoplasma de banana, gerando informações relevantes no que se refere à definição de potenciais cruzamentos visando o melhoramento da qualidade da fruta.

### 2.6.3. Retrocruzamentos

Uma grande vantagem atribuída aos marcadores moleculares é a diminuição do tempo necessário no processo de seleção, pois é possível monitorar diretamente as regiões cromossômicas alvos. No caso de retrocruzamentos, o uso de marcadores moleculares possibilita também o controle da incorporação de regiões genômicas não desejáveis (Ragot et al., 1995) por meio do monitoramento do segmento alvo e da proporção de regiões genômicas do genitor recorrente.

O uso de marcadores moleculares em programas de introgressão gênica por meio de retrocruzamento é talvez a aplicação mais concreta da tecnologia de marcadores moleculares no melhoramento genético (Ferreira e Grattapaglia, 1998). Nesse contexto, diversos trabalhos foram conduzidos para avaliar a eficiência dos marcadores em auxiliar a seleção nos programas de retrocruzamentos com resultados satisfatórios. Hospital et al. (1992), por exemplo, discutem a importância dos marcadores, que podem se tornar mais úteis quando suas posições de mapeamento forem conhecidas.

Stuber (1994) utilizou retrocruzamentos em milho para promover a introgressão de segmentos específicos associados a características quantitativas, como a produção de grãos. A pesquisa demonstrou que o sucesso da introgressão foi facilitado pelo uso de marcadores moleculares.

A utilização de marcadores moleculares, com o objetivo de aumentar a eficiência dos retrocruzamentos, também foi abordada por Openshaw et al. (1994), citados por Rumin (2005). A seleção para o genitor recorrente utilizando marcadores moleculares pode aumentar significativamente a eficiência dos programas de retrocruzamentos por permitir que o melhorista selecione as plantas que apresentem maior proporção genômica do genitor recorrente. Ainda, segundo os autores, no planejamento de um programa de retrocruzamento assistido, deve-se considerar a economia de tempo conseguida com o uso dos marcadores, o número de marcadores necessários para atingir os objetivos e o número de genótipos a ser avaliados. Por meio de simulação de dados os autores verificaram que os métodos de retrocruzamentos que incluíam o uso de marcadores foram mais eficientes quando comparados ao método tradicional, reduzindo o tempo necessário para a recuperação do genótipo do genitor recorrente.

#### 2.6.4. Programas de pré-melhoramento

Indubitavelmente, a alternativa mais promissora para servir de elo entre os recursos genéticos vegetais e os programas de melhoramento é o incremento das atividades relacionadas ao pré-melhoramento (Nass, 2001). De acordo com o autor, as principais contribuições dos programas de pré-melhoramento são: a) síntese de novas populações base; b) identificação de genes potencialmente úteis; c) identificação de novos padrões heteróticos; d) melhor conhecimento dos acessos per se e em cruzamentos; e) maior quantidade de informações sobre os acessos; auxílio no estabelecimento de coleções nucleares (core collections).

O termo pré-melhoramento refere-se à transferência ou introgressão de genes e combinações de genes de materiais genéticos não adaptados para materiais melhorados com potencial produtivo satisfatório (FAO, 1996). Na busca pelos caracteres e/ou genes de interesse, os programas de melhoramento, de uma maneira geral, direcionam seus esforços de seleção com base em materiais adaptados ou que já tenham passado por algum procedimento de seleção ou avaliação. Conseqüentemente, tal prospecção tem como matéria prima germoplasma de base genética estreita.

Na cultura do mamoeiro, Dantas et al. (1999a) sugerem que a introdução, caracterização e avaliação de acessos pode possibilitar a identificação de materiais genéticos superiores, além de fornecer o material básico para programas de melhoramento genético. De acordo com esses autores, existem aproximadamente 30 coleções de *Carica* e espécies relacionadas em todo o mundo, com o objetivo de conservar, caracterizar e avaliar o germoplasma existente, uma vez que, atualmente, a erosão genética tem sido uma das maiores preocupações em todo o mundo. Nesse contexto, novas variedades poderão ser identificadas a partir de estudos de caracterização do potencial produtivo e resistência às principais pragas e doenças.

Diversos trabalhos têm sido realizados utilizando marcadores moleculares para estimar a diversidade genética existente nas coleções de germoplasma (Pereira e Pereira, 2006). Droogenbroeck et al. (2002), citados por Pereira e Pereira (2006), por exemplo, avaliaram 95 acessos pertencentes à espécie *Carica papaya* e espécies relacionadas dos gêneros *Vasconcella* e *Jaracatia* quanto às relações genéticas, observando-se por meio dos marcadores AFLP, que os acessos foram agrupados dentro de cada espécie, validando a classificação

taxonômica. Os resultados também foram concordantes com a recente classificação do grupo *Vasconcella* como um gênero e não como uma seção dentro do gênero *Carica*, conforme era classificado anteriormente. Adicionalmente, o emprego dos marcadores AFLP no estudo da diversidade genética em cultivares, linhagens, germoplasma silvestre e espécies relacionadas, revelou pouca similaridade entre a espécie cultivada (*Carica papaya*) e as demais espécies relacionadas, com índice médio de similaridade de 0,432, ao passo que outras espécies apresentaram entre elas o índice de 0,729.

### **2.6.5. Marcadores moleculares na cultura do mamoeiro**

Trabalhos utilizando marcadores RAPD foram realizados para estudos de divergência genética entre dez cultivares de mamoeiro. Os resultados obtidos evidenciaram que a técnica de RAPD possibilitou a formação de três grupos distintos, discriminando dentro e entre as cultivares em estudo, de acordo com a origem e o conhecimento da genealogia das mesmas (Stiles et al., 1993; citados por Cattaneo, 2001).

Em trabalhos conduzidos por Cattaneo *et al.* (1999), verificou-se a divergência genética entre nove genótipos de mamoeiro dos grupos Solo e Formosa, utilizando marcadores RAPD. Os autores observaram ampla divergência genética entre os genótipos dos grupos Solo e Formosa, de modo que os resultados puderam ser utilizados para prever quais progenitores gerariam maiores expectativas de heterose em cruzamentos.

Sondur *et al.* (1996), usando marcadores RAPD em uma população  $F_2$  proveniente do cruzamento entre as linhagens havaianas UH 356 x Sunrise, construíram um mapa de ligação genética com 11 grupos de ligação, compreendendo 999.3 cM do genoma do mamoeiro, de um total estimado em 1350 cM. O 'screening' de 596 primers possibilitou a identificação de 96 polimórficos. Aproximadamente 80% dos marcadores segregaram de acordo com as leis básicas de Mendel. De acordo com os autores, os resultados demonstraram a utilidade dos marcadores RAPD para o desenvolvimento de um mapa de ligação genética em papaya. Esse estudo também possibilitou o mapeamento do loco ligado ao sexo do mamoeiro (SEX 1).

Parasnis *et al.* (1999) empregaram sondas de microssatélites e de minissatélites altamente informativa para identificar diferenças sexo-específica em

papaya. Segundo eles, somente a sonda de microssatélite (GATA)<sub>4</sub> demonstrou diferenças sexo-específica em todas as cultivares analisada, identificando o sexo masculino. O diagnóstico potencial desses marcadores microssatélites foi explorado para determinação do sexo de plantas de mamoeiro ainda no estágio inicial de desenvolvimento (plântulas).

Marcadores microssatélites e minissatélites foram utilizados por Sharon *et al.* (1992), em estudos de análise genética e de identificação e caracterização entre e dentro de espécies de *Carica*. Os resultados obtidos comprovaram que a técnica constitui-se numa ferramenta útil na identificação de espécies e de cultivares, podendo ser aplicada também na identificação de híbridos específicos e interespecíficos.

Feito essa revisão de literatura sobre a cultura do mamoeiro, nos seus aspectos diversos, serão apresentados a seguir quatro trabalhos que enfocam os aspectos clássicos e moleculares do melhoramento genético do mamoeiro.

### **3. TRABALHOS**

**3.1. MONITORAMENTO DA VARIABILIDADE GENÉTICA EM PROGENITOR  
DE MAMOEIRO 'FORMOSA' DO HÍBRIDO 'UENF/CALIMAN 01' VIA  
RAPD**



### 3.1.1. RESUMO

O melhoramento genético do mamoeiro no Brasil, por meio de hibridações e estudos de capacidade combinatória, pode possibilitar a ampliação da base genética da espécie e superar as limitações quando da escolha de cultivares para o plantio. O objetivo deste trabalho foi monitorar o avanço de gerações de autofecundação no progenitor Formosa do 'UENF/CALIMAN 01', primeiro híbrido de mamão brasileiro, utilizando-se marcadores RAPD. Por meio da genotipagem molecular, estimaram-se os coeficientes de dissimilaridade genética médios em três ciclos de autofecundação ( $C_1$ ,  $C_2$  e  $C_3$ ), tendo como referencial uma população base de mamoeiro 'Formosa', na geração " $S_0$ " (UENF-1594), a qual foi designada  $C_1$ . A opção por este progenitor 'Formosa' foi feita com base em características morfo-agronômicas e, sobretudo, baseado em estudos prévios das capacidades geral e específica de combinação (CGC e CEC) deste material genético quando em cruzamento com materiais genéticos do grupo 'Solo', ao qual pertence o segundo progenitor do híbrido 'UENF/CALIMAN 01'. Para tanto, 27, 30 e 31 plantas dos ciclos  $C_1$ ,  $C_2$  e  $C_3$ , respectivamente, foram "genotipadas". Os coeficientes de dissimilaridade genética médios foram de 0,1766, 0,0555 e 0,0445, nos ciclos  $C_1$ ,  $C_2$  e  $C_3$ , respectivamente. No ciclo  $C_3$ , a reduzida distância média indica uma maior homogeneidade genética deste material, adequando-se a um pré-requisito básico para produção de híbridos uniformes. Portanto, a obtenção do ciclo  $C_4$  não resultaria em ganhos significativos na redução da distância genética e implicaria atraso na liberação das sementes híbridas.

### 3.1.2. ABSTRACT

The breeding of papaya in Brazil, by means of hybridization and combining ability may be able to magnifying the genetic base of the species and surpass the limitations of availability of cultivars for farming. The objective of this work was to monitor the advance of self-pollinated generations in the Formosa progenitor of 'UENF/CALIMAN 01', first Brazilian papaya hybrid, using RAPD markers. By means of molecular genotyping, it was estimated the average coefficient of genetic dissimilarity in three cycles of self-pollination ( $C_1$ ,  $C_2$  and  $C_3$ ), having as referential a base population of the 'Formosa' genotype, in the " $S_0$ " generation (UENF-1594), which was assigned  $C_1$ . The option for this 'Formosa' progenitor was made on the basis of morph-agronomic traits and, over all, based on previous studies of the general and specific combining ability (GCA and SCA) of this genotype when in crosses with genotypes of the 'Solo' group, which belongs the second progenitor of the hybrid 'UENF/CALIMAN 01'. To do so, 27, 30 and 31 individuals of the  $C_1$ ,  $C_2$  and  $C_3$  cycles, respectively, were genotyped. The average coefficients of genetic dissimilarity were 0.1766, 0.0555 and 0.0445, in the  $C_1$ ,  $C_2$  and  $C_3$  cycles, respectively. In the  $C_3$  cycle, the smaller average distance indicates a higher genetic homogeneity of this material, adjusting to a basic pre-requisite for the production of uniform hybrids. Therefore, the attainment of the  $C_4$  cycle would not result in significant profits in the reduction of the genetic distance and would imply delay in the releasing of the hybrid seeds.

### 3.1.3. INTRODUÇÃO

Dos problemas relacionados com a cultura do mamoeiro (*Carica papaya* L.) no Brasil, deve ser ressaltada a limitação de alternativas para a escolha de variedades e/ou híbridos comerciais para o plantio que atendam tanto às exigências do mercado nacional quanto internacional. Aliado a isto, o elevado preço das sementes híbridas dos mamoeiros do grupo 'Formosa', geralmente importadas de Taiwan, por 4.200 dólares por quilograma (Silva et al., 2004), tem levado muitos fruticultores a utilizar plantios sucessivos com as gerações F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> e F<sub>4</sub> do híbrido 'Tainung 01', acarretando inúmeros problemas, sobretudo, com a perda de vigor e segregação para o formato do fruto.

Uma medida para contornar este problema é recorrer a ampliação da base genética do mamoeiro, por meio de hibridações intraespecíficas e interespecíficas. Entretanto, a utilização desta última alternativa apresenta limitações impostas pelas barreiras interespecíficas, que devem ser transpostas por procedimentos apropriados como a utilização da técnica de cultivo de embrião *in vitro*. A hibridação interespecífica juntamente com um programa de retrocruzamento constitui uma importante ferramenta para possibilitar a introgressão de novos genes de interesse em variedades cultivadas, liberando uma ampla variabilidade genética nas gerações subseqüentes (Siqueira et al., 1988).

O estudo de capacidade combinatória, por meio de cruzamentos dialélicos pode contribuir substancialmente para o sucesso dos programas de melhoramento genético vegetal, possibilitando a identificação de progenitores

para hibridação e de híbridos com qualidades superiores, bem como auxiliando na identificação do método de seleção mais apropriado, por permitir que parâmetros genéticos sejam conhecidos *a priori* (Cruz e Regazzi, 1997).

Em razão da alta taxa de alogamia nos genótipos 'Formosa' os genitores disponíveis possuem graus variáveis de locos em heterozigose. Desta forma, há necessidade de se monitorar a evolução do grau de fixação dos genitores para que se possa produzir híbridos vigorosos e uniformes.

Neste contexto, associado aos procedimentos de melhoramento clássico, o emprego das técnicas de marcadores de DNA trouxe uma perspectiva inteiramente nova para o melhoramento genético vegetal, sendo utilizadas com sucesso em várias culturas, inclusive, o mamoeiro. Dentre as diversas aplicações dos marcadores de DNA, estão os estudos sobre a diversidade genética entre acessos de germoplasma (Lanza et al., 1997; Wadt et al., 2004), elaboração de mapas genéticos de ligação (Ferreira e Grattapaglia, 1998), mapeamento de QTLs (locos de características quantitativas) (Kato, 2004; Pereira e Lee, 1995), além de ser ferramenta importante em trabalhos de seleção.

O objetivo deste trabalho foi estimar os coeficientes de dissimilaridade genética médios nos ciclos 1, 2 e 3 ( $C_1$ ,  $C_2$  e  $C_3$ ), provenientes de sucessivas autofecundações do progenitor 'Formosa' do híbrido 'UENF/CALIMAN 01', primeiro híbrido (Solo x Formosa) de mamão brasileiro, lançado em 2003, utilizando-se marcadores RAPD. Por meio dos coeficientes de dissimilaridade genética foi possível inferir sobre o grau de variabilidade genética dentro de cada ciclo de autofecundação.

### 3.1.4. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1.4.1. Material genético

Nesse trabalho, foram utilizadas três gerações ( $C_1$ ,  $C_2$  e  $C_3$ ), tendo como referencial uma população base de mamoeiro 'Formosa', na geração "S<sub>0</sub>" (UENF-1594) a qual foi designada  $C_1$ . Os ciclos  $C_2$  e  $C_3$  originaram-se da autofecundação de um indivíduo das gerações  $C_1$  e  $C_2$ , respectivamente.

A opção por este progenitor 'Formosa' foi feita com base em características morfo-agronômicas e, sobretudo, baseado em estudos prévios das capacidades geral e específica de combinação (CGC e CEC) deste material genético quando em cruzamento com materiais genéticos do grupo 'Solo', ao qual pertence o segundo progenitor do híbrido 'UENF/CALIMAN 01'. Para tanto, lâminas foliares jovens foram coletadas em plantas hermafroditas e femininas, ao acaso, em 27, 30 e 31 indivíduos dos ciclos  $C_1$ ,  $C_2$  e  $C_3$ , respectivamente, provenientes do Banco de Germoplasma de Mamoeiro da UENF, localizado na Empresa CALIMAN AGRÍCOLA S.A, em Linhares-ES. A variação dos números amostrados (27, 30 e 31) decorreu de descartes de indivíduos que não apresentaram padrões confiáveis de amplificação. Posteriormente, as amostras foliares foram trazidas para o Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (LMGV/CCTA/UENF), em Campos dos Goytacazes – RJ, onde foram maceradas em nitrogênio líquido, acondicionadas em tubos "Falcon" fechados com capacidade de 15 mL e armazenadas em ultrafreezer (-86 °C),.

Considerando-se que a uniformidade de um híbrido depende da uniformidade genética de seus progenitores, o avanço dessas gerações de autofecundação do progenitor 'Formosa' do híbrido "UENF/CALIMAN 01" foi necessário, pois, inicialmente, este material genético, ao contrário do progenitor do grupo 'Solo', não estava fixado para algumas características morfo-agronômicas, apresentando algum grau de heterozigose e conseqüentemente, uma segregação que poderia comprometer a uniformidade do híbrido resultante.

#### **3.1.4.2. Extração do DNA genômico**

De cada amostra foliar macerada, dos três ciclos de autofecundação, aproximadamente 200 mg de tecido foi transferido para tubos eppendorf com capacidade para 1,5 mL e acondicionados em nitrogênio líquido. O DNA genômico foi extraído pelo método CTAB (Doyle e Doyle, 1990), com algumas modificações descritas a seguir. Adicionaram-se aos tubos 800 µL do tampão de extração pré-aquecido contendo 1% CTAB; 1,4 M NaCl; 20 mM EDTA; 100 mM Tris-HCl (pH 8,0); 1% PVP e 0,1% β-mercaptoetanol, incubando-se a 65°C por 30 a 40 minutos e agitando-se suavemente os tubos a cada 10 minutos. Posteriormente, centrifugaram-se as amostras a 13400 g por cinco minutos, transferiram-se os sobrenadantes para novos tubos, adicionaram-se 700-800 µL de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1) e inverteram-se os tubos continuamente até formar emulsão. Esse passo foi repetido mais uma vez e, após nova centrifugação, os sobrenadantes foram transferidos para novos tubos, onde adicionaram-se 2/3 do volume de isopropanol gelado, com suave inversão e colocados por uma noite em geladeira. No dia seguinte, procedeu-se uma nova centrifugação a 13400 g por 10 minutos, obtendo-se os péletes (precipitados), que foram lavados duas vezes com 200 µL de etanol 70% e uma vez também com 200 µL de etanol 95%, secos em temperatura ambiente, ressuspensos em 200 µL de solução Tris-EDTA (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8,0) e incubados com RNase numa concentração final de 40 µg mL<sup>-1</sup> a 37°C por 30 minutos. Após a adição de 20 µL de NaCl 5M e 140 µL de isopropanol gelado em cada tubo, a mistura foi encubada por uma noite a 4°C. Em seguida, centrifugaram-se as suspensões a 13400 g por 10 minutos, secaram-se e, finalmente, ressuspenderam-se os péletes em 200 µL de solução de TE. As concentrações de DNA nas amostras foram estimadas utilizando-se como padrão DNA de

mamoeiro com concentração previamente conhecida, em gel de agarose a 0,8% contendo brometo de etídio. Em seguida, as amostras foram padronizadas na concentração de  $10 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ .

### **3.1.4.3. Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (RAPD)**

#### **3.1.4.3.1 Reação da polimerase em cadeia (PCR)**

As reações de amplificação para RAPD foram realizadas de acordo com Willians et al. (1990), modificado num volume final de  $20 \mu\text{L}$ , contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3); KCl 50 mM;  $\text{MgCl}_2$  2,4 mM;  $100 \mu\text{M}$  de cada um dos desoxirribunocliotídeos (dATP, dCTP, dGTP e dTTP);  $0,3 \mu\text{M}$  de cada iniciador; 20 ng de DNA genômico e uma unidade da enzima *Taq* DNA polimerase. As amplificações foram feitas em um termociclador (Perkin Elmer GeneAmp PCR System 9700) programado para  $95^\circ\text{C}$  por 1 minuto seguido de 45 ciclos de 1 minuto a  $94^\circ\text{C}$ , 1 minuto a  $36^\circ\text{C}$  e 2 minutos a  $72^\circ\text{C}$  e um passo final para extensão de 7 minutos a  $72^\circ\text{C}$ . Após as amplificações, a temperatura das amostras foi reduzida para  $4^\circ\text{C}$ . Os produtos de amplificação (bandas) foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1,0% e visualizados após coloração por brometo de etídio, em um sistema de fotodocumentação EAGLE EYE II.

#### **3.1.4.4. Análise dos dados moleculares**

Os perfis RAPD de cada genótipo foram obtidos pela presença (1) ou ausência (0) de bandas considerando a análise conjunta dos três ciclos. A mesma análise foi realizada nos ciclos 1, 2 e 3, separadamente, e o complemento do Índice de Jaccard (Alfenas et al., 1991) foi calculado como  $1 - I_{AB}$  que é igual a  $1 - a/(a+b+c)$ , onde: a corresponde ao número de bandas presentes em ambos os genótipos, simultaneamente; b corresponde ao número de bandas presentes apenas no genótipo A e c corresponde ao número de bandas presentes apenas no genótipo B.

#### **3.1.4.5. Análise estatística**

A matriz de distância genética, considerando os três ciclos em conjunto, foi usada para realizar a análise de agrupamento via método hierárquico (UPGMA - Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean), bem como pelo método

de otimização de Tocher, citado por Rao (1952). Outra análise de agrupamento foi realizada usando a matriz de distância genética em cada ciclo, separadamente, por meio do método hierárquico (UPGMA). As análises estatísticas foram realizadas por meio dos programas GENES (Cruz, 2001) e STATISTICA versão 95 (StatSoft Inc, Tulsa, Oklahoma, EUA).



### 3.1.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os iniciadores RAPD usados nas reações em cadeia da polimerase (PCR), as seqüências de nucleotídeos, bem como o número de bandas monomórficas e polimórficas, estão apresentados na Tabela 1. Trinta iniciadores foram analisados em 88 indivíduos, sendo 27, 30 e 31 plantas dos ciclos C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> e C<sub>3</sub>, respectivamente, e um total de 134 produtos (bandas) foi obtido. Das 134 bandas obtidas, 63 foram polimórficas e 71 foram monomórficas, ou seja, em média, cada iniciador gerou 2,10 bandas polimórficas e 2,37 bandas monomórficas. O número total de bandas por iniciador variou de 2 a 7, sendo que 47,01% das bandas revelaram polimorfismos.

Estes resultados estão bem próximos dos resultados encontrados por Cattaneo (2001), que analisando 22 cultivares de mamoeiro com 34 iniciadores RAPD, encontrou 155 bandas totais, das quais, 75 foram polimórficas e 80 foram monomórficas, ou seja, em média, cada iniciador gerou 2,20 bandas polimórficas e 2,35 bandas monomórficas e, no geral, 48,38% das bandas foram polimórficas.

Aplicando-se um teste de Qui-quadrado (5% de significância) no estudo das marcas polimórficas indicadas na Tabela 1, verificou-se que a redução do número de marcas polimórficas do C<sub>1</sub> (60) para o C<sub>2</sub> (23) e do C<sub>2</sub> para o C<sub>3</sub> (17), se ajusta ao esperado, que seria de 60 (C<sub>1</sub>), 30 (C<sub>2</sub>) e 15 (C<sub>3</sub>). Portanto, com base neste teste de hipótese, não há razão nenhuma para discordar de que a redução do polimorfismo ao longo dos ciclos de autofecundação foi de 50% a cada geração.

Tabela 1. Iniciadores RAPD utilizados e análise descritiva das marcas monomórficas, polimórficas e totais, considerando os ciclos C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> e C<sub>3</sub>.

Iniciador	Marcas											
	Monomórficas				Polimórficas				Total			
	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	Geral	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	Geral	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	Geral
OPA 12	02	02	02	02	04	03	03	04	06	05	05	06
OPD 04	02	02	02	02	01	0	0	01	03	02	02	03
OPD 15	02	05	05	02	04	0	0	04	06	05	05	06
OPD 20	02	03	05	02	03	02	0	03	05	05	05	05
OPE 06	03	04	04	03	02	01	01	02	05	05	05	05
OPF 12	02	02	03	02	02	01	0	02	04	03	03	04
OPG 10	04	05	05	04	02	0	0	02	06	05	05	06
OPN 09	04	04	04	04	01	01	0	01	05	05	04	05
OPN 13	02	03	03	02	02	01	01	02	04	04	04	04
OPO 10	02	04	04	02	02	0	0	02	04	04	04	04
OPO 15	04	04	04	04	01	0	0	01	05	04	04	05
POR 15	03	04	04	03	01	0	0	01	04	04	04	04
OPV 14	02	03	03	02	01	0	0	01	03	03	03	03
OPW 02	03	03	03	03	01	0	0	01	04	03	03	04
OPAA 12	02	03	03	02	03	02	02	03	05	05	05	05
OPAA 17	03	04	04	03	01	0	0	01	04	04	04	04
OPAB 01	03	03	02	02	01	0	01	02	04	03	03	04
OPAB 08	02	03	03	02	02	0	0	02	04	03	03	04
OPAC 01	01	01	01	01	03	03	03	03	04	04	04	04
OPAC 14	06	06	06	06	01	0	0	01	07	06	06	07
OPAE 01	02	02	04	02	02	02	0	03	04	04	04	05
OPAE 02	02	03	03	02	02	0	0	02	04	03	03	04
OPAE 11	01	03	03	01	04	02	02	04	05	05	05	05
OPAF 07	02	02	02	02	01	0	0	01	03	02	02	03
OPAG 11	01	02	02	0	03	01	01	04	04	03	03	04
OPAH 04	02	03	03	02	03	0	0	03	05	03	03	05
OPAH 14	02	02	02	02	03	02	01	03	04	04	03	05
OPAH 18	01	02	02	01	01	0	0	01	02	02	02	02
OPAI 03	03	03	03	03	01	01	01	01	04	04	04	04
OPAJ 20	03	03	03	03	02	01	01	02	05	04	04	05
Total	73	93	97	71	60	23	17	63	132	116	114	134

Há de se entender que as marcas polimórficas em um determinado ciclo refletem a proporção de locos não fixados, portanto, relacionados a locos em heterozigose em uma proporção dos indivíduos. Considerando ainda que o ciclo subsequente foi resultante da autofecundação de um único indivíduo, os locos polimórficos do ciclo seguinte refletem a proporção de locos em heterozigose da planta autofecundada. E, conforme o esperado, em cada geração de autofecundação, a proporção de locos em heterozigose reduziu à metade,

conseqüentemente o polimorfismo, conforme os resultados observados. Também, ainda na Tabela 1, conforme o esperado, observa-se um aumento do número de marcas monomórficas do C<sub>1</sub> para C<sub>2</sub> e do C<sub>2</sub> para C<sub>3</sub>, e um decréscimo do número total de marcas considerando C<sub>1</sub> para C<sub>2</sub> para C<sub>3</sub>.

Os valores extremos e médios do coeficiente de dissimilaridade genética estimados para cada ciclo com suas respectivas amplitudes e desvios padrão são mostrados na Tabela 2. A amplitude desses valores foi maior no ciclo C<sub>1</sub>, indicando que neste ciclo houve uma divergência bastante considerável, reduzindo em 49,46% e 54,76% quando comparado com os ciclos C<sub>2</sub> e C<sub>3</sub>, respectivamente. Contudo, comparando-se os ciclos C<sub>2</sub> e C<sub>3</sub>, verifica-se que a magnitude de redução da amplitude da divergência genética foi de apenas 10,48%.

Tabela 2. Valores máximo, mínimo, médio e de amplitude total das estimativas do coeficiente de dissimilaridade genética de cada ciclo, obtido pelo complemento aritmético do Índice de Jaccard, com os respectivos desvios padrão da média.

Ciclo	Dissimilaridade genética				Desvio padrão
	Mínimo	Máximo	Média	Amplitude	
C <sub>1</sub>	0,0700	0,2833	0,1766 a	0,2133	0,0429
C <sub>2</sub>	0,0093	0,1171	0,0555 b	0,1078	0,0205
C <sub>3</sub>	0,0000	0,0965	0,0445 c	0,0965	0,0179

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste t ao nível de 5 % de probabilidade

Fazendo uma análise comparativa das médias e seus respectivos desvios padrão, verifica-se que a redução de ambos os parâmetros foi bastante pronunciada entre os ciclos C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub>, e embora numa magnitude menor entre os ciclos C<sub>2</sub> e C<sub>3</sub>, as médias foram significativamente diferentes pelo teste t ao nível de 5% de probabilidade. Apesar da diferença significativa entre as médias dos ciclos C<sub>2</sub> e C<sub>3</sub>, a magnitude da diferença entre elas (0,011) é pequena quando comparada com a magnitude da diferença entre os ciclos C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub> (0,1211), indicando que no ciclo C<sub>3</sub> já há uniformidade genética suficiente para ser aproveitada nos procedimentos de hibridação e obtenção de híbridos uniformes, inclusive, com indivíduos geneticamente idênticos (distância genética = 0,000), considerando as condições experimentais deste trabalho.

Na Figura 1, está apresentada a análise de agrupamento baseada na distância genética, considerando os três ciclos, usando o método hierárquico UPGMA. Baseado nesta análise de agrupamento observa-se a formação de um grande grupo com 87 indivíduos (98,86%), contemplando os três ciclos, ligado a um indivíduo do ciclo  $C_1$  que se mostrou bastante divergente. Contudo, estabelecendo-se uma linha de corte em 0,065, observa-se a separação dos ciclos  $C_2$  e  $C_3$  em dois grupos com pequenas distorções, tais como a inserção de um genótipo  $C_2$  (3,33%) no grupo  $C_3$ , a inserção de um genótipo  $C_3$  (3,22%) no grupo  $C_2$  e a inserção de um genótipo  $C_1$  (1A) (3,70%) no grupo  $C_2$ , bem como a exclusão de quatro genótipos  $C_2$  (13,33%) de ambos os grupos. A análise do dendrograma como um todo mostra uma redução pronunciada na distância genética entre os genótipos dos ciclos  $C_2$  e  $C_3$  em comparação com o ciclo  $C_1$ , além de uma maior dispersão nas distâncias entre os genótipos dos ciclos  $C_1$  e  $C_2$ , corroborando com os resultados apresentados na Tabela 1.

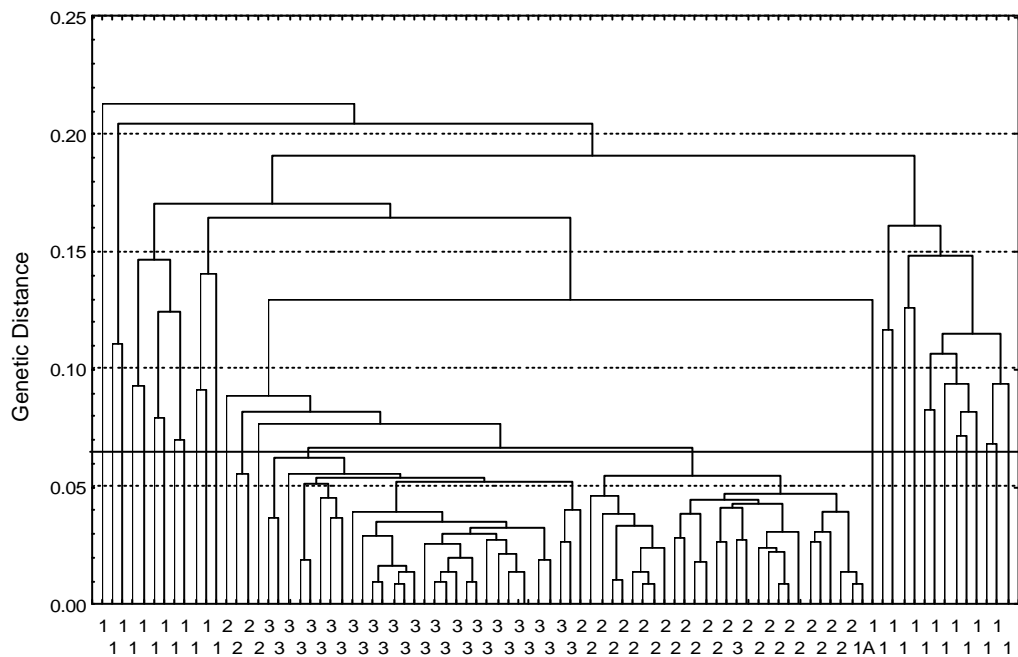


Figura 1. Dissimilaridade genética entre e dentro dos ciclos de autofecundação de mamoeiro  $C_1$  (1),  $C_2$  (2) e  $C_3$  (3), obtida pelo método UPGMA, com base na matriz de distância genética gerada por meio dos marcadores RAPD. 1A, refere-se à planta  $C_1$  autofecundada para gerar o ciclo  $C_2$ .

A planta 1A foi selecionada para gerar o ciclo  $C_2$  e, portanto, a sua presença neste ciclo era esperada. Por outro lado, a identidade da planta  $C_2$  autofecundada para gerar o ciclo  $C_3$  não foi anotada e, portanto, apenas pode-se inferir que provavelmente, a planta  $C_2$  que se agrupou juntamente com as plantas  $C_3$  lhe represente. A alocação de indivíduos de ciclos precedentes em posteriores não deve caracterizar surpresa, uma vez que seus alelos são passados para geração ou gerações seguintes.

Para uma melhor ilustração da evolução na redução da distância genética média nos ciclos  $C_1$ ,  $C_2$  e  $C_3$ , foi realizado um agrupamento para cada ciclo separadamente, com base na matriz de distância genética e utilizando o método UPGMA (Figura 2).

A Figura 2 caracteriza bem a evolução na redução da distância genética entre os indivíduos dos ciclos  $C_1$ ,  $C_2$  e  $C_3$ , em que se observa uma pronunciada dispersão no ciclo  $C_1$ , com uma escala de distância genética variando de 0,04 a 0,24 e a primeira linha de corte em 0,06, abaixo da qual não se encontra agrupado nenhum dos indivíduos, e uma segunda linha de corte em 0,08, abaixo da qual encontram-se agrupados 22,22% dos genótipos. Em  $C_2$ , a dispersão foi bastante reduzida em comparação com o ciclo  $C_1$ , com uma escala variando de 0,00 a 0,09 e uma primeira linha de corte estabelecida em 0,01, abaixo da qual estão agrupados 26,67% dos indivíduos. Finalmente, no ciclo  $C_3$ , embora menos pronunciada considerando a comparação dos ciclos  $C_1$  e  $C_2$ , observa-se uma redução na dispersão das distâncias, com uma escala variando de 0,00 a 0,07 e uma primeira linha de corte estabelecida em 0,01, abaixo da qual encontram-se agrupados 32,26% dos indivíduos.

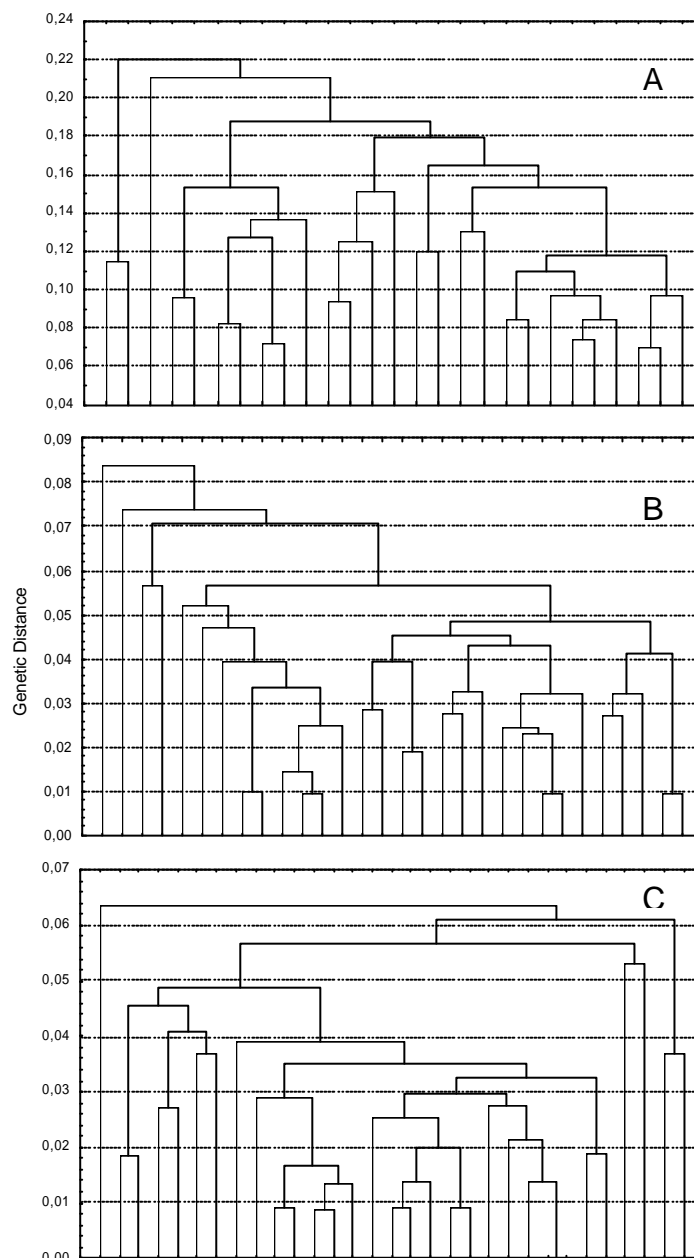


Figura 2. Dissimilaridade genética entre 27, 30 e 31 plantas de mamoeiro dos ciclos  $C_1$  (A),  $C_2$  (B) e  $C_3$  (C), respectivamente, obtida pelo método UPGMA, com base na matriz de distância genética gerada por meio dos marcadores RAPD

Os resultados do agrupamento dos 88 indivíduos de mamoeiro dos ciclos  $C_1$  (27),  $C_2$  (30) e  $C_3$  (31), por meio do método de otimização de Tocher, encontram-se na Tabela 3.



Numa primeira tentativa de agrupamento, houve a formação de cinco grupos reunindo os ciclos  $C_2$ ,  $C_3$  e nove indivíduos do ciclo  $C_1$  no primeiro grupo, e os demais (18  $C_1$ ) nos grupos II, III, IV e V. Posteriormente, reagruparam-se os indivíduos do primeiro grupo em seis sub-grupos (Ia, Ib, Ic, Id, Ie e If), conforme Tabela 3. Com este reagrupamento, excetuando-se o  $C_1A$  (planta autofecundada para gerar o ciclo  $C_2$ ), todos os indivíduos  $C_1$  foram deslocados para sub-grupos distintos (Ib, Ic, Id, Ie, e If), permanecendo os ciclos  $C_2$  e  $C_3$  em um único sub-grupo (Ia).

Com o reagrupamento do sub-grupo Ia, formaram-se treze novos sub-grupos (Tabela 3) (Iaa, Iab, Iac, Iad, Iae, Iaf, Iag, Iah, Iai, Iaj, Ial, Iam e Ian), permitindo uma melhor distinção entre os ciclos  $C_2$  e  $C_3$ . Nesta última análise, observa-se uma maior uniformidade do ciclo  $C_3$  com a formação de cinco sub-grupos distintos (Iaa, Iac, Iae, Iaj e Iam), dos quais o primeiro contempla 77,42% dos indivíduos. Por outro lado, os indivíduos  $C_2$  foram reagrupados em oito sub-grupos (Iab, Iad, Iaf, Iag, Iah, Iai, Ial e Ian), e o Iab contemplou 70% deles, juntamente com um indivíduo de cada um dos ciclos  $C_1$  e  $C_3$ .

De forma geral, tomando como referência a linha de corte estabelecida em 0,065 na Figura 1, observa-se que o método de otimização de Tocher foi menos efetivo em discriminar os ciclos  $C_2$  e  $C_3$ , quando comparado com o método de agrupamento hierárquico UPGMA.

No presente trabalho, os marcadores RAPD foram eficientes em discriminar os ciclos de autofecundação analisados, evidenciando uma dispersão genética significativamente maior no ciclo  $C_1$  e reduzida no ciclo  $C_3$ . Esta dispersão genética maior no ciclo  $C_1$  é justificável, uma vez que cultivares de mamoeiro 'Formosa' tendem a ter uma taxa de alogamia acentuada, promovendo recombinações genéticas e, portanto, preservando uma certa variabilidade genética.

Mesmo em plantas autógamas cultivadas, como o feijoeiro, que possui baixa taxa de fecundação cruzada, tem sido observado variabilidade genético-molecular dentro das cultivares (Menezes et al., 2004). Estes autores identificaram ampla variabilidade genético-molecular em linhagens de feijão amostradas dentro das cultivares Carioca e Pérola, e concluíram que a cultivar Carioca utilizada pelos agricultores é completamente diferente da cultivar original. Tal variabilidade é atribuída à mistura de cultivares e às mutações geradas nas



extensas áreas plantadas com feijão, ampliando a base genética destes materiais, útil para o melhoramento.

Os resultados obtidos no presente trabalho indicaram que, o avanço de mais uma geração de autofecundação para a obtenção e genotipagem molecular do ciclo C<sub>4</sub> não resultaria em ganhos significativos na redução da distância genética e implicaria em atraso na liberação das sementes híbridas.

### 3.1.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfenas, A.C., Peters, I., Brune, W., Passador, G.C. (1991) Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Cattaneo, L.F. (2001) Avaliação da divergência genética e análise de gerações em mamoeiro (*Carica papaya* L.). Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 94p.
- Cruz, C.D. (2001) Programa Genes (Versão Windows): aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 648p.
- Cruz, C.D., Regazzi, A.J. (1997) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Editora UFV, Viçosa, 390p.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L. (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus. 12:13-15.
- Ferreira, M.E., Grattapaglia, D. (1998) Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. Embrapa – Cenargen, Brasília-DF. 220p.
- Kato, T. (2004) Quantitative trait loci controlling the number of spikelets and components traits in rice: the main effects and interaction with years. Breeding Science 54: 125-132.
- Lanza, L.L.B., Souza Junior, C.L., Ottoboni, L.M.M., Vieira, M.L.C., Souza, A.P. (1997) Genetic distance of inbred lines and prediction of maize single-cross performance using RAPD markers. Theoretical and Applied Genetics 94:1023-1030.
- Menezes, M.V.C.O., Santos, J.B., Menezes, M. (2004) Genetic diversity in Carioca and Pérola cultivars of common bean based on RAPD markers. Crop Breeding and Applied Biotechnology 4:178-182.

- Pereira, M.G., Lee, M. (1995) Identification of genomic regions affecting plant height in sorghum and maize. *Theor. Appl. Genet.* 90:380-388.
- Rao, R.C. (1952) *Advanced statistical methods in biometric research.* John Wiley and Sons, New York.
- Silva, M.C.A., Tarsitano, M.A.N., Corrêa, L.S. (2004) Análise do custo de produção e lucratividade do mamão Formosa Cultivado no município de Santa Fé do Sul (SP). *Revista Brasileira de Fruticultura* 26: 40-43.
- Siqueira, W.J., Fonseca, M.I.S, Sondhal, M.R. (1988) Regeneração de plantas híbridas entre *Lycopersicon esculentum* e *L. peruvianum* a partir de calos com dois anos de cultura *in vitro*. *Bragantia.* Campinas 47:1-8.
- Wadt, L.H.O., Ehringhaus, C., Kageyama, P.Y. (2004) Genetic diversity of “Pimenta Longa” genotypes (*Piper spp.*, Piperaceae) of the Embrapa Acre germoplasma collection. *Genetics and Molecular Biology* 27:74-82.
- Williams, J.G., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalsky, L.A., Tingey, S.V. (1990) DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18:6531-6535.

### **3.2. AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO SEXUAL DO MAMOEIRO NO INVERNO E NO VERÃO EM LINHARES – ESPÍRITO SANTO**

### 3.2.1. RESUMO

O cultivo do mamoeiro no Brasil explora, principalmente, plantas hermafroditas. Nestas plantas, variações de flores hermafroditas alongadas (normais) para as formas carpelóides, pentândricas e femininas estéreis ocorrem, influenciadas tanto pelos fatores genéticos quanto pelos fatores ambientais. O objetivo deste trabalho foi estimar as variações das flores hermafroditas alongadas para as formas deformadas e femininas estéreis, bem como as deformações de frutos, no inverno de 2003 e no verão de 2003/04 em Linhares-ES. Para tanto, foram avaliadas 137 e 108 plantas hermafroditas RC<sub>1</sub>, aos 180 dias após o transplante (DAT) e 330 DAT, correspondendo ao final do inverno de 2003 e ao verão de 2003/04, respectivamente. Para fins comparativos, foram avaliadas 15 plantas do genótipo elite 'Golden', em ambas as épocas. As características avaliadas foram as seguintes: números de flores totais (NFT), número de flores deformada (NFD), número de flores estéreis (NFE), número de flores normais (NFN), número de frutos totais (NFrT), número de frutos carpelóides (NFrC), número de frutos pentândricos (NFrP) e número de frutos comerciais (NFrCom.). Em razão da limitação prática em separar flores carpelóides e pentândricas pelo fenótipo externo, estas foram agrupadas na categoria deformada. Os resultados possibilitaram a identificação de plantas RC<sub>1</sub> mais estáveis a variações de temperatura do ar em ambas as épocas. Por exemplo, o número de flores hermafroditas normais (NFN) variou de 1 a 46 e de 0 a 25 na geração RC<sub>1</sub>, no inverno e no verão, respectivamente, ao passo que, no genótipo 'Golden' esses valores variaram de 7 a 36 no inverno e foram nulos no verão devido à

esterilidade de 100% de suas flores. Com isso, pôde-se fazer inferência acerca da seleção de genótipos mais estáveis, assim como da utilização dessas variáveis em programas de melhoramento.

### 3.2.2. ABSTRACT

The papaya crop in Brazil explores, mainly, hermaphrodite plants. In these plants, variations of hermaphrodite elongate flowers (normal) occur for the carpelloid, pentandric and sterile feminine forms, influenced by genetic and ambient factors. The objective of this work was to estimate the variations of the hermaphrodites elongate flowers to deformed forms and to feminine sterile, as well as the deformations of fruits, in the winter of 2003 and summer of 2003/04 in Linhares-ES. To do that, 137 and 108 hermaphrodite BC<sub>1</sub> plants were evaluated 180 days after the transplantation (DAT) and 330 DAT, corresponding to the end of the 2003 winter and to the summer of 2003/04, respectively. For comparative ends, 15 plants of the elite genotype 'Golden' had been evaluated, in both seasons. The evaluated characteristics were: numbers of total flowers (NTF), number of deformed flowers (NDF), number of sterile flowers (NEF), number of normal flowers (NNF), number of total fruits (NTFr), number of carpelloid fruits (NCFr), number of pentandric fruits (NPFr) and number of commercial fruits (NCom. Fr). Considering the practical limitation in separating carpelloid and pentandric flowers for the external phenotypes, these were grouped into the deformed category. The results made possible the identification of BC<sub>1</sub> plants more stable to air temperature variations in both seasons. For example, the number of normal hermaphrodite flowers (NNHF) varied from 1 to 46 and from 0 to 25 in BC<sub>1</sub> generation, in winter and summer, respectively. For another side, in the 'Golden' genotype these values varied from 7 to 36 in the winter and had been null in the summer due the sterility of 100% of its flowers. With such results, inference

concerning the selection of more stable genotypes could be made, as well as of the use of these variables in breeding programs.



### 3.2.3. INTRODUÇÃO

O mamoeiro cultivado (*Carica papaya* L.) apresenta três formas básicas de flores: femininas, masculinas e hermafroditas. A seleção de plantas hermafroditas de mamoeiro para produção comercial apresenta um problema especial, pois, a expressão sexual nessas plantas é muito variável e influenciada tanto pelos fatores genéticos quanto pelos fatores ambientais (Awada, 1958; Arkle Junior e Nakasone, 1984).

Variações de flores hermafroditas alongatas (normais) para as formas carpelóides, pentândricas e femininas estéreis ocorrem, em plantas hermafroditas. No inverno, onde as baixas temperaturas noturnas prevalecem, os estames são transformados em estruturas semelhantes aos carpelos, as quais são chamadas de carpeloidia dos estames. Outros fatores que promovem a carpeloidia dos estames são a alta umidade do solo, alta umidade relativa do ar e elevados níveis de nitrogênio no solo (Awada, 1953; Arkle Junior e Nakasone, 1984).

A esterilidade feminina ou esterilidade de verão, caracterizada pela supressão do ovário em flores hermafroditas, ocorre em flores iniciadas durante os meses de verão, onde ocorrem as altas temperaturas (Awada, 1958; Storey, 1941). Baixos níveis de nitrogênio no solo e estresse hídrico também favorecem a esterilidade feminina (Awada, 1953; Awada, 1958).

Os fatores determinantes do fenótipo sexual em plantas são diversos, abrangendo desde os cromossomos sexuais em *Marchantia polymorpha* e *Silene latifolia* a regulação hormonal em *Zea mays* e *Cucumis sativa* (Tanurdzic e Banks,

2004). Entretanto, no mamoeiro, essa questão ainda não está bem esclarecida. Dentre as hipóteses propostas para explicar a determinação do sexo nessa espécie, a mais aceita é aquela proposta por Hofmeyr (1938) e Storey (1938) segundo a qual, a herança do sexo é monogênica, com três alelos designados pelos símbolos  $m$ ,  $M^1$  e  $M^2$ . Storey (1953), estabeleceu que as combinações dominantes,  $M^1M^1$ ,  $M^2M^2$  e  $M^1M^2$ , são letais zigóticas. Segundo Storey (1941) os indivíduos portadores dos genótipos  $mm$ ,  $M^1m$  e  $M^2m$ , são denominados ginóicos (femininos), andróicos (masculinos) e andromonóicos (hermafroditas), respectivamente.

Sondur et al. (1996), com base em marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), mapearam um loco (*SEX 1*) ligado a determinação sexual em *Carica papaya* e referiram-se aos alelos propostos por Storey (1938) e Hofmeyr (1938) como (*SEX1-M*) para o alelo que determina a masculinidade e (*SEX1-H*) para o alelo que determina o hermafroditismo, ambos dominantes sobre o alelo (*sex1-f*), que na forma homozigota determina a feminilidade.

Este trabalho objetivou avaliar a expressão sexual do mamoeiro no inverno de 2003 e no verão de 2003/04, em geração segregante  $RC_1$ , no município de Linhares-ES, estimando-se as variações das flores hermafroditas alongatas para as formas deformadas e femininas estéreis, bem como as deformações de frutos nas suas formas carpelóides e pentândricos.

### **3.2.4. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.2.4.1. Localização do experimento**

O experimento foi instalado na área comercial da empresa CALIMAN AGRÍCOLA S/A, município de Linhares, Estado do Espírito Santo-Brasil, localizado geograficamente entre os paralelos 19° 06'-19° 18' de latitude sul e entre os meridianos 39° 45'-40° 19' oeste (Rolim et al., 1999) e os solos são em sua maioria classificados como Podzólicos Vermelho Amarelo, textura argilo arenosa, fase floresta sub-perenifólia, relevo plano a suavemente ondulado (platôs litorâneos). O clima da região é do tipo Awi de Köppen (tropical úmido), com chuvas no verão e inverno seco. A precipitação pluviométrica média anual foi estimada em 1224,3 mm no período de 1975 a 1995, temperatura média de 23 °C e umidade relativa do ar de 83,5% (Rolim et al., 1999).

#### **3.2.4.2. Material genético**

Neste trabalho, foram utilizadas plantas hermafroditas de uma geração RC<sub>1</sub>, derivada de um cruzamento inicial entre o genótipo dióico 'Cariflora' (genitor recorrente) e a variedade elite 'Sunrise Solo 783' (SS 783) e para fins comparativos, foram utilizadas também 15 plantas hermafroditas do genótipo elite 'Golden'. O genótipo 'Cariflora', por ser dióico, apresenta um elevado grau de locos em heterozigose, gerando a expectativa de uma pronunciada variabilidade genética na geração RC<sub>1</sub>, útil para a seleção de plantas superiores.

O genótipo 'Cariflora' é uma seleção dióica com frutos de polpa amarela e com moderada firmeza, e peso médio em torno de 1,67 kg, além de um agradável sabor e aroma (Conover *et al.*, 1986). Por outro lado, o genótipo 'SS 783' é uma variedade elite com fruto piriforme, pesando em média 0,52 kg, polpa vermelha e de boa qualidade.

O 'Golden' é proveniente de seleção massal realizada nos campos de produção de 'Sunrise Solo', na empresa Caliman Agrícola S/A, no Estado do Espírito Santo. Possui frutos piriformes, com polpa vermelho-alaranjado e peso médio em torno de 0,45kg.

#### **3.2.4.3. Instalação e avaliação do experimento**

O experimento foi instalado em 25 de março de 2003. As mudas foram transplantadas para duas fileiras em espaçamento definitivo de 1,5 m x 3,6 m. As adubações, o manejo, o controle de pragas e doenças e os tratos culturais utilizados foram os mesmos dos plantios comerciais da empresa Caliman Agrícola S/A.

Foram avaliadas 137 e 108 plantas hermafroditas RC<sub>1</sub>, aos 180 dias após o transplântio (DAT) e 330 DAT, correspondendo ao final do inverno de 2003 (setembro) e ao verão de 2003/04 (fevereiro), respectivamente. Para fins comparativos, foram avaliadas 15 plantas do genótipo elite 'Golden', em ambas as épocas.

As características avaliadas foram as seguintes: números de flores totais (NFT), número de flores deformadas (NFD), número de flores estéreis (NFE), número de flores normais (NFN), número de frutos totais (NFrT), número de frutos carpélóides (NFrC), número de frutos pentândricos (NFrP) e número de frutos comerciais (NFrCom.). Em razão da limitação prática em separar flores carpelóides e pentândricas pelo fenótipo externo, estas foram agrupadas na categoria deformada.

#### **3.2.4.4. Dados climatológicos**

Nos Quadros 1 e 2, estão apresentadas as principais informações climatológicas do município de Linhares-ES, nos meses que antecederam as avaliações florais em cada época, e o Quadro 3, refere-se ao histórico do período

compreendido entre os anos de 1974 e 2004, em ambas as épocas de avaliação do experimento.

Quadro 1. Descrição das variações na temperatura do ar nas estações do inverno de 2003 e verão de 2003/04, no município de Linhares-ES.

Mês/ano	Temperatura do ar (°C)				
	Média das máximas	Média das mínimas	Média compensada	Máxima absoluta	Mínima absoluta
Julho/2003	27,9	16,9	21,5	32,2	13,0
Agosto/2003	27,1	17,1	21,3	31,8	12,4
Setembro/2003	28,1	18,5	22,5	34,4	13,4
Média (inverno)	27,7	17,5	21,8	32,8	12,9
Dezembro/2003	31,3	22,6	26,2	34,6	19,6
Janeiro/2004	29,7	22,5	25,4	33,4	19,2
Fevereiro/2004	30,8	22,4	25,8	35,6	19,6
Média (verão)	30,6	22,5	25,8	34,5	19,5

Fonte: Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER)

Quadro 2. Descrição das variações na precipitação pluviométrica nas estações do inverno de 2003 e verão de 2003/04, no município de Linhares-ES.

Mês/ano	Precipitação (mm) e Umidade relativa do ar (%)			
	Altura total	Máxima em 24h	Data	Umidade relativa do ar
Julho/2003	76,7	28,6	14	82
Agosto/2003	36,9	13,6	03	79
Setembro/2003	31,8	18,8	30	79
Média (inverno)	48,5	20,3	-	80
Dezembro/2003	234,9	58,9	07	80
Janeiro/2004	282,3	63,3	31	85
Fevereiro/2004	126,2	22,4	27	83
Média (verão)	214,5	48,2	-	82,7

Fonte: Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER)

Quadro 3. Histórico das temperatura e precipitação médias nos meses de verão e de inverno no município de Linhares-ES, correspondente ao período de 1974 a 2004.

Mês/ano	Temperatura do ar (°C)	Precipitação (mm)
Julho	21,0	52,7
Agosto	21,4	45,8
Setembro	22,2	68,4
Média (inverno)	21,5	55,6
Dezembro	25,4	206,5
Janeiro	26,0	170,0
Fevereiro	26,2	86,2
Média (verão)	25,9	154,2

Fonte: Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER)

#### 3.2.4.5. Análise estatística

A comparação das médias foi realizada por meio do teste  $t$  ao nível de 5 % de probabilidade, por meio do programa GENES (Cruz, 2001).

### 3.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização climatológica do inverno de 2003 e do verão de 2003/04 no município de Linhares-ES, mostrou uma variação considerável na temperatura do ar entre as duas épocas, com médias de 21,8°C e 25,8°C, respectivamente (Quadro 1). Além disso, verificaram-se maiores amplitudes térmicas nos meses de inverno, embora exista também variação considerável entre as temperaturas máximas e mínimas nos meses de verão. Comparando-se os valores médios de temperatura nas duas épocas de avaliação com o histórico compreendido entre os anos de 1974 a 2004 (Quadro 3), verifica-se que estes foram muito próximos.

A diferença de precipitação média entre as duas épocas foi discrepante, com um incremento no verão (214,5 mm) de mais de quatro vezes em relação ao inverno (48,5 mm) (Quadro 2). Comparando-se os valores médios de precipitação nas duas épocas de avaliação com o histórico compreendido entre os anos de 1974 a 2004 (Quadro 3), verifica-se que estes foram muito discrepantes nos meses de verão.

Os valores extremos e médios das características florais e suas respectivas amplitudes e desvios padrão são mostrados na Tabela 1, e a Figura 1, ilustra bem as principais variações das flores hermafroditas alongatas (normais) para as formas carpelóides, pentândricas e femininas estéreis.

Tabela 1. Valores mínimos, máximos, médios, de amplitude e desvio padrão das características florais em plantas hermafroditas de uma geração RC<sub>1</sub> e do genótipo elite 'Golden', aos 180 DAT e aos 330 DAT, correspondendo ao inverno de 2003 e ao verão de 2003/04, respectivamente.

Tratamento	Número de flores totais									
	Inverno					Verão				
	Mínimo	Máximo	Média	Amplitude	Desvio padrão	Mínimo	Máximo	Média	Amplitude	Desvio padrão
RC <sub>1</sub>	18	80	38,37 A a	62	10,75	2	86	20,59 A b	84	16,32
Golden	27	40	35,00 B a	13	3,60	4	8	6,36 B b	4	1,28
Número de flores deformadas										
RC <sub>1</sub>	0	43	9,96 A a	43	8,84	0	2	0,05 A b	2	0,25
Golden	0	4	1,20 B a	4	1,21	0	0	0 B b	0	0
Número de flores estéreis										
RC <sub>1</sub>	0	33	8,26 A b	33	7,09	2	86	15,88 A a	84	15,05
Golden	0	8	3,81 B b	8	2,10	4	8	6,36 B a	4	1,28
Número de flores normais										
RC <sub>1</sub>	1	46	20,15 B a	45	9,37	0	25	4,67 A b	25	5,81
Golden	7	36	28,94 A a	29	6,87	0	0	0 B b	0	0

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e pela mesma letra minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste t ao nível de 5 % de probabilidade.





Figura 1. Variações das flores hermafroditas alongatas (normais) (A) para as formas femininas estéreis (B), carpelóides (C) e pentândricas (D), em mamoeiro hermafrodita.

O número de flores totais (NFT) foi significativamente maior no inverno, em ambos os tratamentos, reduzindo em 46,34% e 81,83% no verão na geração RC<sub>1</sub> e no genótipo 'Golden', respectivamente. Comparando-se os dois tratamentos em cada época, verifica-se que no inverno a diferença entre a média do RC<sub>1</sub> e a média do 'Golden' é de apenas 3,37 unidades ao passo que no verão essa diferença foi de 14,23 unidades.

O número de flores deformadas (carpelóides e pentândricas) (NFD) foi significativamente maior no inverno para ambos os tratamentos, com valores variando de 0 a 43 no RC<sub>1</sub> e de 0 a 4 no genótipo 'Golden'. No verão, estas variações florais foram pouco expressivas no RC<sub>1</sub> e nulas no 'Golden'. Portanto, verificou-se que a época de maior ocorrência das deformações florais foi o inverno, sobretudo no RC<sub>1</sub> com uma ampla variabilidade para essa característica, indicada pela sua amplitude de 43 unidades e pelo seu desvio padrão sete vezes maior que o do 'Golden'.

Ao contrário das deformações florais, a esterilidade feminina em flores hermafroditas (supressão do ovário) foi significativamente maior no verão, em que todas as plantas, independente do tratamento, apresentaram pelo menos duas flores estéreis. Os resultados indicam uma ampla variabilidade genética entre as plantas do RC<sub>1</sub> com uma amplitude de 84 unidades e desvio padrão 14 vezes maior do que os desvios do genótipo 'Golden', no verão. Comparando-se os dois tratamentos em ambas as épocas, observa-se que as respostas do genótipo

'Golden' foram diferentes do RC<sub>1</sub> para os valores de amplitude e desvio padrão. Neste último, houve um incremento considerável nestes valores, no verão, ao passo que no 'Golden', houve uma redução. Na geração RC<sub>1</sub>, existe, evidentemente, as variações genotípicas entre os indivíduos ao passo que no 'Golden' pode se considerar que as variações entre plantas são essencialmente ambientais, justificando portanto, as diferenças bruscas de variabilidade genética, a favor da população RC<sub>1</sub>.

O número médio de flores normais (NFN), representado pela diferença entre o número de flores totais e o número de flores deformadas + o número de flores estéreis, reduziu drasticamente em ambos os tratamentos, no verão, em que o 'Golden' apresentou 100% de suas flores estéreis. No RC<sub>1</sub>, apesar da redução no valor médio das flores normais no verão, houve uma ampla dispersão com valores variando de 0 a 25.

Recentemente, o desenvolvimento floral tem sido objeto de um grande número de pesquisas, sobretudo com as espécies modelo *Arabidopsis thaliana* e *Anthirrinus majus*. Essas duas plantas possuem flores hermafroditas, ou seja, possuem órgãos reprodutivos masculinos e femininos funcionais na mesma flor (Fonseca e Dornelas, 2002). Em *Arabidopsis thaliana*, por exemplo, plantas crescidas a 18°C e a 23°C apresentam distinção quanto ao tempo de florescimento e aos aspectos morfológicos foliar (Samach e Wigge, 2005). Segundo estes autores, a baixa temperatura do ar atrasa o florescimento e promove alterações no número, aparência e morfologia foliar.

No presente trabalho, a média do NFT reduziu substancialmente no verão, sobretudo no genótipo 'Golden'. Nesta época, ao contrário do inverno, o NFT foi representado em grande parte pelo NFE, sobretudo no RC<sub>1</sub>, que embora tenha havido uma maior dispersão e um maior desvio padrão para NFT, estes foram traduzidos fielmente em esterilidade feminina. Dessa forma, os resultados indicam que no verão, o incremento no NFT está diretamente relacionado com o incremento no NFE. Por outro lado, no inverno, apesar de a média do NFE ter sido aproximadamente a metade do verão para ambos os tratamentos, houve uma incidência acentuada de flores deformadas, principalmente no RC<sub>1</sub>, em que foram observadas plantas com valores abrangendo de 0 a 43, ou seja, uma amplitude de 43 unidades.

O número médio de flores normais (NFN), no inverno, representou 52,5% e 82,7% do NFT, no RC<sub>1</sub> e no 'Golden', respectivamente. Esta diferença entre os tratamentos se deveu principalmente a maior incidência de deformações no RC<sub>1</sub>, que em média foi oito vezes maior do que no 'Golden'. Entretanto, no verão, o NFN foi drasticamente reduzido em ambos os tratamentos, representando em média 22,7% do NFT no RC<sub>1</sub> e nenhuma flor normal no 'Golden'. Apesar do baixo valor médio observado no RC<sub>1</sub>, algumas plantas se destacaram como mais tolerantes as adversidades climáticas do verão. Por outro lado, o genótipo elite 'Golden', amplamente cultivado nas regiões produtoras de mamão dos Estados do Espírito Santo e da Bahia, não dispõe de mecanismos adaptativos para superar tais adversidades, e por isso, abortou o ovário de 100% de suas flores diferenciadas no verão. Essa resposta do genótipo 'Golden', no verão, reflete numa distribuição irregular da frutificação e da safra ao longo do ano, e por conseqüência, promove uma alteração na oferta e nos preços dos frutos. No entanto, na geração segregante RC<sub>1</sub>, observa-se um potencial de seleção de genótipos superiores mais estáveis quanto à distribuição de flores normais e, por conseqüência, de frutificação ao longo do ano.

A ocorrência de maior deformação floral no inverno pode ser atribuída a menor temperatura média do ar que foi de 21,8 °C e, sobretudo, as maiores amplitudes térmicas que em média foi 2,1 °C a mais do que no verão. Por outro lado, a maior ocorrência da esterilidade feminina, no verão, deve ser atribuída diretamente a maior temperatura média do ar que foi de 25,8 °C, ou seja, 4 °C a mais do que no inverno (Quadro 1). Contudo, há de se considerar o caráter atípico das chuvas durante os meses de verão que em média foi de 214,5 mm (Quadro 2), superior à média histórica compreendida entre os anos de 1974 e 2004 que foi de 154,2 mm (Quadro 3). O excesso de chuvas pode ter potencializado os efeitos estressantes das altas temperaturas sobre a expressão sexual de ambos os tratamentos. Portanto, os resultados demonstram o quanto a expressão sexual do mamoeiro hermafrodita é sensível às flutuações térmicas e chuvas excessivas, tendendo as deformações florais ou esterilidade feminina em resposta a essas mudanças.

De acordo com Nakasone (1988), citado por Damasceno Junior, (2004), a seleção de plantas de mamoeiro hermafrodita com baixas taxas de esterilidade feminina deve ser efetuada nos meses mais quentes e/ou secos do ano, e a

seleção para baixos índices de deformações florais (carpeloidia e pentandria) deve ser efetuada nos meses frios do ano. Dessa forma, de acordo com as condições em que foram obtidos os nossos resultados, pode-se indicar que a melhor época para seleção de plantas com reduzida incidência de deformações florais é o inverno, sobretudo, na transição para a primavera. Entretanto, a seleção de plantas com reduzida expressão da esterilidade feminina deve ser realizada no final do verão.

Os valores extremos e médios das características de frutificação e suas respectivas amplitudes e desvios padrão são mostrados na Tabela 2. No inverno de 2003, na geração RC<sub>1</sub>, foram observados plantas com número de frutos totais (NFrT), número de frutos carpelóides (NFrC), número de frutos pentândricos (NFrP) e número de frutos comerciais (NFrCom.) variando de 2 a 47, 0 a 9, 0 a 18 e 1 a 46, respectivamente. No verão de 2003/2004, estes valores variaram entre 2 a 104, 0 a 16, 0 a 22 e 2 a 85 para NFrT, NFrC, NFrP e NFrCom., respectivamente.

Ao contrário do RC<sub>1</sub>, o 'Golden' apresentou 100% de seus frutos com valor comercial em ambas as épocas, destacando-se ainda que, no verão, sua produção média (NFrCom.) foi aproximadamente duas vezes maior do que no inverno (Tabela 2). Por se tratar de um material genético homogêneo, as variações observadas no 'Golden' para o NFrT e NFrCom., em ambas as épocas, foram inferiores às variações no RC<sub>1</sub>. No que se refere a carpeloidia e pentandria dos frutos, os resultados indicam uma maior adaptação do 'Golden' às variações dos fatores climáticos estudados.

Apesar da menor produção média de frutos comerciais no verão, o RC<sub>1</sub> mostrou-se promissor para a seleção de plantas altamente produtivas, com baixa ou nula expressão da carpeloidia e da pentandria, em ambas as épocas. De acordo com a literatura (Awada, 1953; Arkle Junior e Nakasone, 1984), podemos inferir que a maior expressão das deformações dos frutos no verão, sobretudo a carpeloidia, é resultante em parte das maiores deformações florais observadas no inverno, e também, potencializada pelos excessos de umidade do solo e pelas variações entre as temperaturas máximas e mínimas ocorridas nos meses da primavera e do verão. Portanto, é razoável afirmar que a maior parte das deformações nas flores diferenciadas no inverno, no RC<sub>1</sub>, foi devido a carpeloidia dos estames.

Em uma amostragem feita no inverno de 2003 em plantas hermafroditas do genótipo elite 'Sunrise Solo 783' (Damasceno Junior, 2004), cultivar utilizada no cruzamento inicial com o 'Cariflora' para a obtenção da população RC<sub>1</sub>, verifica-se que em média o NFD foi nulo, o NFE foi 6% maior do que no RC<sub>1</sub>, o NFrP foi nulo e o NFrC foi em torno de 1% menor do que no RC<sub>1</sub>. Portanto, a expressão das deformações florais e de frutificação do RC<sub>1</sub> em ambas as épocas, provavelmente, foi em parte devido à herança genética do genótipo 'Cariflora', uma vez que na condição dióica, este jamais expressaria essas características.

Tabela 2. Valores mínimos, máximos, médios, de amplitude e desvio padrão das características frutificação em plantas hermafroditas de uma geração RC<sub>1</sub> e do genótipo elite 'Golden', aos 180 DAT e aos 330 DAT, correspondendo ao inverno de 2003 e ao verão de 2003/04, respectivamente.

Tratamento	Número de frutos totais									
	Inverno					Verão				
	Mínimo	Máximo	Média	Amplitude	Desvio padrão	Mínimo	Máximo	Média	Amplitude	Desvio padrão
RC <sub>1</sub>	2	47	21,11 A b	45	9,22	2	104	39,17 A a	102	19,08
Golden	7	20	14,06 B b	13	4,00	28	55	39,21 A a	27	7,45
Número de frutos carpelóides										
RC <sub>1</sub>	0	9	0,67 A b	9	1,31	0	16	4,17 A a	16	3,18
Golden	0	0	0 B a	0	0	0	0	0 B a	0	0
Número de frutos pentândricos										
RC <sub>1</sub>	0	18	0,98 A b	18	2,63	0	22	1,91 A a	22	3,83
Golden	0	0	0 B a	0	0	0	0	0 B a	0	0
Número de frutos comerciais										
RC <sub>1</sub>	1	46	19,46 A b	45	9,22	2	85	33,10 B a	83	16,92
Golden	7	20	14,06 B b	13	4,00	28	55	39,21 A a	27	7,45

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e pela mesma letra minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste t ao nível de 5 % de probabilidade.

As variações nas deformações florais e de frutificação observadas no genótipo 'Golden', em ambas as épocas, e no genótipo 'SS 783', no inverno, podem ser atribuídas às causas ambientais. Porém, na geração RC<sub>1</sub>, as variações observadas foram atribuídas as causas genéticas e ambientais, e estas, foram úteis na seleção das melhores plantas para avançar gerações, gerando a expectativa de geração de linhagens endogâmicas superiores para o conjunto de variáveis estudadas.

De acordo com Cronquist (1988), citado por Dallaporta e Calderon-Urrea (1993), existe uma visão amplamente difundida de que todas as plantas com flores originaram-se de um ancestral comum hermafrodita, indicando que muitos dos programas de desenvolvimento floral são comuns a todas as espécies. Entretanto, no mamoeiro, acredita-se que o hermafroditismo é recente, produto de uma evolução secundária e que este mecanismo se estabeleceu a partir do cromossomo Y, diferenciando-se no novo cromossomo Y<sup>2</sup>, sem nenhuma alteração no cromossomo X, sendo as plantas femininas (XX), masculinas (XY<sup>1</sup>) e hermafroditas (XY<sup>2</sup>) (Horovitz e Jimenez, 1967).

Estudos em plantas-modelo têm demonstrado que o processo de florescimento é regulado por uma complexa rede de vias de sinalização, modulada pelas condições ambientais (Araki, 2001; Samach e Coupland, 2000). Neste contexto, o controle genético da carpeloidia dos estames e da esterilidade feminina no mamoeiro parece ser extremamente complexo, e Storey (1953) postulou dois conjuntos independentes de fatores que podem modificar a expressão do sexo em plantas masculinas e hermafroditas sob certas condições ambientais. Um grupo de fatores promove mudanças sazonais suprimindo o desenvolvimento do gineceu (esterilidade feminina) em plantas hermafroditas, e que posteriormente voltam a ser normais (femininas férteis). O outro conjunto promove a carpeloidia dos estames, freqüentemente com fusão do pistilo.

Do ponto de vista evolutivo, parece razoável supor que os estresses causados pelas temperaturas extremas, umidade excessiva ou escassez de água no solo e desequilíbrio nutricional promovam alterações fisiológicas no mamoeiro hermafrodita, culminando na expressão dos distúrbios florais. Dentre estas alterações fisiológicas, não se pode descartar a participação de alguns hormônios vegetais intermediando a expressão dos distúrbios florais, uma vez que em outras espécies como *Cucumis sativus*, algumas espécies de *Vitis*, *Zea mays*,

*Mercurialis annua*, dentre outras, a participação hormonal na reversão do sexo já está bem caracterizada (Dallaporta e Calderon-Urrea, 1993).

Talvez, a manifestação das variações da flor hermafrodita alongada (normal) para as deformadas e femininas estéreis represente uma estratégia evolutiva para superar estresses sazonais e garantir a manutenção da planta. De acordo com Horovitz et al. (1953), em populações espontâneas de mamoeiro, que voltam ao estado silvestre, a forma hermafrodita é eliminada em poucas gerações pela masculina, dando lugar a populações estritamente dióicas. Nesse sentido, é possível que a expressão das deformações florais, nas suas formas carpelóide e pentândrica, represente uma tendência de a planta retornar ao sexo feminino, uma vez que estas parecem ser mais estáveis e mais eficientes na alocação dos fotoassimilados para produção de frutos. Por outro lado, a esterilidade feminina, indica uma forma de a planta economizar energia sem comprometer a dispersão dos seus alelos na população. Com isso, a planta prioriza o lado reprodutivo em detrimento ao produtivo, uma vez que em alguns casos cessa-se completamente a produção de frutos. Evidentemente que isso representa uma tendência uma vez que, no campo, existe uma dinâmica desses eventos em função das flutuações dos fatores do clima, nutricional e genético, podendo ocorrer em qualquer época do ano em maior ou menor grau.

Esses distúrbios florais refletem negativamente na produção de frutos comerciais e, dessa forma, a identificação de plantas mais adaptadas às flutuações das principais variáveis climáticas, sobretudo temperatura do ar, deve ser considerada como um dos objetivos principais do melhoramento genético do mamoeiro. Dessa forma, evidencia-se a necessidade de se conduzir gerações segregantes para fins de seleção em programas de melhoramento, específico para as principais regiões produtoras do Brasil, estimando-se os efeitos da interação genótipo x ambiente, preferencialmente, assistido pelos marcadores de DNA.

Os resultados das avaliações florais e de frutificação, na geração RC<sub>1</sub>, são indicativos da presença de variabilidade genética para as variações na expressão do sexo, possibilitando a identificação de plantas menos responsivas às variações de temperatura entre as duas épocas de avaliação, ou seja, mais adaptadas, facilitando a tomada de decisão na seleção das plantas superiores para o avanço de gerações.



### 3.2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araki, T. (2001) Transition from vegetative to reproductive phase. *Current opinion in Plant Biology* 4:63-68.
- Arkle Junior, T.D., Nakasone, H.Y. (1984) Floral differentiation in the hermaphroditic papaya. *HortScience* 19(6): 832-834.
- Awada, M. (1953). Effects of moisture on yield and sex expression of the papaya plants (*Carica papaya* L.). Hawaii Agricultural Experiment Station Progress, Notes nº 97.
- Awada, M. (1958) Relationships of minimum temperature and growth rate with sex expression of papaya plants (*Carica papaya* L.). Hawaii Agricultural Experiment Station, Technical Bulletin 38: 1-16.
- Conover, R.A., Litz, R.E., Malo, S.E. (1986) Cariflora, a papaya for South Florida with tolerance to papaya ringspot virus. Florida: Agricultural Experiment Station, University of Florida, (Circular, 329), 3p.
- Cruz, C.D. (2001) Programa Genes (Versão Windows): aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 648p.
- Dallaporta, S.L., Calderon-Urrea, A. (1993) Sex determination in flowering plants. *The Plant Cell* 5:1241-1251.
- Damasceno Junior, P.C. (2004) Estudo reprodutivo em mamoeiro (*Carica papaya* L.). Dissertação de mestrado, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 74p.
- Fonseca, T.C., Dornelas, M.C. (2002) Evolução do sexo em plantas. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento* 27:48-51.
- Hofmeyr, J.D.J. (1938) Genetical studies of *Carica papaya* L. African Dept. Agric. For Sci., Bull. 187:1-46.

- Horovitz, S., Zerpa, D.M., Arnal, H. (1953) Frecuencias de equilibrio de las formas sexuales en poblaciones de *Carica papaya* L. *Agronomia Tropical* 3: 149-174.
- Horovitz, S., Jimenez, H. (1967) Cruzamientos interespecíficos e intergenericos en Caricaceas y sus implicaciones fitotecnias. *Agronomia Tropical* 17:353-359.
- Rolim, S.G., Couto, H.T.Z., Jesus, R.M. (1999) Mortalidade e recrutamento de árvores na Floresta Atlântica de Linhares (ES). *Scientia Forestalis* 55:49-69.
- Samach, A., Coupland, G. (2000) Time measurement and the control of flowering in plants. *Bioessays* 22:38-47.
- Samach, A., Wigge, P.A. (2005) Ambiente temperature perception in plants. *Current opinion in Plant Biology* 8:483-486.
- Sondur, S.N., Manshardt, R.M., Stiles, J.I. (1996) A genetic linkage map of papaya based on randomly amplified Polymorphic DNA markers. *Theor. Appl. Genet.* 93:547-553.
- Storey, W.B. (1938) The primary flower types of papaya and the fruit types that develop from them. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 35: 83-85.
- Storey, W.B. (1941) The botany and sex relationships of the papaya. In: *Papaya production in the Hawaiian Islands*. Hawaii Agricultural Experiment Station, Bulletin 87:5-22.
- Storey, W.B. (1953) Genetics of the papaya. *J. Hered.*, Washington 44:70-78.
- Tanurddzic M, Banks JA (2004) Sex-determining Mechanisms in Land Plants. *The Plant Cell*16:61-71.

**3.3. ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS E DO GANHO DE  
SELEÇÃO EM GERAÇÕES SEGREGANTES DE MAMOEIRO (*Carica papaya*  
L.)**

### 3.3.1. RESUMO

Apesar de o Brasil se destacar como o maior produtor mundial de mamão, ainda existe limitação de alternativas para a escolha de variedades e/ou híbridos comerciais para o plantio que atendam tanto às exigências do mercado nacional quanto internacional e poucos trabalhos têm sido desenvolvidos visando o estudo da herança das principais características de importância para o melhoramento da cultura. O objetivo deste trabalho foi estimar os parâmetros genéticos relacionados a características reprodutivas, produtivas e qualitativas de frutos em gerações segregantes e em genótipos elites de mamoeiro, bem como estimar o ganho genético, por meio da seleção direta e combinada, para produção de frutos comerciais por planta (Prod/Plt) nas gerações segregantes. A análise de variância mostrou diferenças significativas, pelo teste F, entre os tratamentos, para maioria das características avaliadas. Considerando que os tratamentos segregantes são provenientes de um cruzamento inicial entre a variedade 'Sunrise Solo 783' (SS 783) e o genótipo 'Cariflora', pode-se deduzir que, provavelmente, a maior expressão das deformações florais, carpeloidia e pentandria dos frutos, verificadas nos tratamentos 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>, são herdadas do genitor 'Cariflora', uma vez que na condição dióica, essas características jamais se expressariam nesse genótipo. Fazendo-se uma relação entre o número de flores totais (NFT) e o número de flores estéreis (NFE), observa-se que houve uma tendência de maior expressão da esterilidade feminina naqueles tratamentos com maior NFT, sobretudo no 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>. A produção de frutos comerciais (Prod/Plt) foi significativamente maior no tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, seguido pelo SS 783 e pelo SS

72/12 x 4RC<sub>1</sub>, porém, todos os tratamentos segregantes foram significativamente ou ligeiramente superiores ao Golden, uma das variedades mais plantadas nas regiões produtoras de mamão do Espírito Santo. De acordo com os resultados das estimativas de parâmetros genéticos das características morfoagronômicas e relativas à qualidade de frutos, observa-se que a seleção nas gerações segregantes apresenta grandes possibilidades de sucesso por apresentarem ampla variabilidade genotípica com valores do coeficiente de determinação genotípico ( $H^2$ ) superiores ou próximos de 80% e índice de variação ( $I_v$ ) com magnitudes superiores à unidade. Neste trabalho, a seleção combinada com base em índice foi realizada fixando-se pesos para as características número de frutos carpelóides (NFrC), número de frutos pentândricos (NFrP), NFE, número de flores normais (NFN), Prod/Plt e teor de sólidos solúveis ( $^{\circ}$ BRIX). Fazendo-se uma comparação entre o ganho genético direto e combinado para Prod/Plt, observa-se que o ganho genético em todos os tratamentos foi maior quando não se considerou o índice de seleção combinado, sobretudo no tratamento 3, em que a diferença foi de 20,27 unidades percentuais. Contudo, há de se considerar que, apesar dessa redução no ganho genético combinado, as estimativas considerando o índice de seleção combinado, valorizam, além da produção, as demais características favoráveis e reduzem as características desfavoráveis ao melhoramento genético do mamoeiro. Os resultados das estimativas dos parâmetros genéticos e os elevados ganhos genéticos obtidos, pelas diferentes estratégias de seleção, são indicativos de que os materiais genéticos segregantes avaliados dispõem de variabilidade genética para as características avaliadas e, portanto, são promissores para o avanço de gerações com uma expectativa de obtenção de linhagens superiores em curto e médio prazo. Portanto, foram recomendados o avanço de gerações com 30 plantas, selecionadas em um total de 345 plantas, contemplando todos os tratamentos segregantes.

### 3.3.2. ABSTRACT

Despite the Brazil be the greatest world-wide papaya producer country, still exists limitation of alternatives for the choice of varieties and/or commercial hybrids for farming that satisfy the demand of the national as well the international market and few works have been developed aiming the study of the inheritance of the main important traits for breeding this crop. The objective of this work was to estimate the genetic parameters related to the reproductive and productive characteristics and of fruit quality, in segregating generations and in elite germplasm of papaya, as well as to estimate the genetic gain by means of direct and combined selection for the production of fruits per plant (Prod/Plt.) on the segregating populations. The variance analysis showed significant differences, for the F test, for treatments, for the majority of the evaluated characteristics. Considering that the segregating treatments are derived from initial crosses between the variety 'Sunrise Solo 783' (SS 783) and the 'Cariflora' genotype, it could be deduced that, probably, the expression of the floral deformations, carpelloidy and pentandry of the fruits, verified in the treatments 52BC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> and BC<sub>2</sub>, are inherited from the 'Cariflora' genitor, once, in the dioecious condition these characteristics never would be expressed in this genotype. Considering the ration between the number of total flowers (NTF) and the number of sterile flowers (NEF), it was observed a tendency of higher expression of the feminine sterility on those treatments with higher NTF, especially in 115BC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>. The production of commercial fruits (Prod/Plt) was significantly higher in the treatment 115BC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, followed by SS 783 and by SS 72/12 x 4BC<sub>1</sub>, however, all the segregating treatments had been significantly or

slightly superior to the Golden, one of the most cropped variety in the producing regions of papaya in the Espírito Santo State. In agreement with the results of the estimates of genetic parameters of the evaluated traits, it may be concluded that, the selection in the segregating generations presents great possibilities of success in reason of the ample genotypic variability with values of the coefficient of genotypic determination ( $H^2$ ) superior or next to 80% and variation index ( $l_v$ ) superior to the unit. In this work, the combined selection based on an index was carried by fixing weights for the characteristics number of carpelloid fruits (NCFr), number of pentandric fruits (NPFr), NEF, number of normal flowers (NNF), Prod/Plt and soluble solid ( $^{\circ}$ BRIX). The results indicated satisfactory genetic gains in all of the treatments, with prominence for the treatment 115BC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> which presented a genetic gain of 99.24%. Comparing the direct and combined genetic gain for Prod/Plt, it is possible to observe that the genetic gain for all the treatments was higher when it was not considered the combined selection index, especially for the treatment number 3, where the difference was of the 20.27 in units of percentage. For another side, it must be considered that despite the reduction of the genetic gain from the combined selection, the estimates considering the combined selection emphasizes, besides production, the other favorable traits and reduces the unfavorable traits for papaya breeding. The present results, considering the genetic parameters estimates and the elevated genetic gains for the different selection strategies are indicatives that the segregating genotypes evaluated contain genetic variability for the evaluated traits and, thus, are promising for advancing generations with the expectation of obtaining superior lines on a short a medium time. So, it was recommended the selection and advance the generation of 30 individuals selected from a total of 345 plants, considering all the segregating treatments.

### 3.3.3. INTRODUÇÃO

O melhoramento genético do mamoeiro (*Carica papaya* L.) no Brasil, associado a boas práticas de manejo pode contribuir substancialmente para o aumento da produtividade e para a melhoria das características qualitativas do fruto. Este objetivo pode ser alcançado, em parte, por meio do acesso a informações básicas relativas à herança das principais características agronômicas que se deseja melhorar, assim como da variabilidade genética disponível para o melhoramento.

Apesar de o Brasil se destacar como o maior produtor mundial de mamão (Nehmi et al., 2002), ainda existe limitação de alternativas para a escolha de variedades e/ou híbridos comerciais para o plantio que atendam tanto às exigências do mercado nacional quanto internacional e poucos trabalhos têm sido desenvolvidos visando o estudo da herança das principais características de importância para o melhoramento da cultura.

A obtenção de estimativas de parâmetros genéticos é de fundamental importância para os programas de melhoramento, pois permite identificar a natureza da ação dos genes envolvidos no controle dos caracteres quantitativos e avaliar a eficiência das diferentes estratégias de melhoramento para obtenção de ganhos genéticos e manutenção de uma base genética adequada (Cruz e Carneiro, 2003). Ainda, segundo esses autores, dentre os parâmetros genéticos de maior importância destacam-se as variâncias genéticas aditiva e não-aditiva, as herdabilidades e as correlações.



Ao efetuar a estimação de parâmetros genéticos, há de se considerar que as estimativas obtidas só são válidas para a população, da qual o material experimental constitui algum tipo de amostra, e para as condições de ambientes em que o experimento foi conduzido. Portanto, quando se deseja estimar, experimentalmente, as variâncias genéticas, tanto os genótipos quanto os ambientes de experimentação devem ser representativos da população e da área geográfica de interesse, respectivamente (Cockerham, 1956; Robinson e Cockerham, 1965; citado por Morais et al., 1997).

Associado ao cálculo de variâncias genética e de médias, a obtenção de estimativas de outros parâmetros genéticos, como coeficiente de herdabilidade e de variação genética, índice de variação e correlações genéticas, é de fundamental importância para se predizer ganhos, avaliar a viabilidade de determinado programa de melhoramento e orientar na adoção da estratégia mais eficiente de seleção (Vencovsky, 1969; citado por Morais et al., 1997).

De acordo com as considerações anteriores, o objetivo deste trabalho foi estimar os parâmetros genéticos relacionados a características reprodutivas, produtivas e qualitativas de frutos em gerações segregantes e em genótipos elites de mamoeiro, bem como estimar o ganho genético, por meio da seleção direta e combinada, para produção de frutos comerciais por planta (Prod/Plt) nas gerações segregantes.

### 3.3.4. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.3.4.1. Material genético

Neste trabalho, foram utilizadas plantas hermafroditas dos seguintes materiais genéticos: 16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, SS 72/12 x 4RC<sub>1</sub>, RC<sub>2</sub>, SS 783 e Golden. Os cinco primeiros materiais genéticos são segregantes e os dois últimos são variedades elites do grupo 'Solo'. Os números que antecedem o "RC<sub>1</sub>" refere-se às plantas da geração RC<sub>1</sub> que foram autofecundadas (16, 52, e 115) e utilizada em cruzamento (04).

As gerações segregantes são derivadas de um cruzamento inicial entre o genótipo dióico 'Cariflora' e a variedade elite 'Sunrise Solo 783' (SS 783). Os três primeiros genótipos foram obtidos por meio da autofecundação de plantas RC<sub>1</sub>, provenientes do primeiro retrocruzamento com o genótipo 'Cariflora' (RC<sub>1</sub>) e, a geração segregante RC<sub>2</sub>, foi obtida por meio do segundo retrocruzamento com o genótipo 'Cariflora' (RC<sub>2</sub>). Por outro lado, 'SS 72/12 x 4RC<sub>1</sub>' foi obtido por meio do cruzamento entre uma planta segregante RC<sub>1</sub> (4) (doadora de pólen) e uma planta da variedade elite 'Sunrise Solo 72/12' (SS 72/12).

O genótipo 'Cariflora' é uma seleção dióica com frutos de polpa amarela e com moderada firmeza, e peso médio em torno de 1,67 kg, além de um agradável sabor e aroma (Conover *et al.*, 1986). Seu cruzamento com genótipos do grupo 'Solo' resulta em híbridos muito vigorosos e produtivos, porém, bastante heterogêneos, pois apresenta um elevado grau de locos em heterozigose. Por outro lado, o genótipo 'SS 783' é uma variedade elite, com fruto piriforme pesando em média 0,52 kg, polpa vermelha e de boa qualidade.

A variedade 'SS 72/12' apresenta boas características de qualidade de fruto, formato piriforme, tamanho pequeno, pesando na faixa de 0,35 a 0,45 kg, com coloração de polpa vermelho-alaranjada, consistente e resistente ao transporte (Marin et al., 1986; Manica, 1996).

#### **3.3.4.2. Instalação e avaliação do experimento**

O experimento foi instalado na área comercial da empresa CALIMAN AGRÍCOLA S/A (Fazenda Romana), município de Linhares, Estado do Espírito Santo-Brasil, em 25 janeiro de 2005. A empresa está localizada geograficamente entre os paralelos 19° 06'-19° 18' de latitude sul e entre os meridianos 39° 45'-40° 19' oeste (Rolim et al., 1999), e os seus solos são em sua maioria classificados como Podzólicos Vermelho Amarelo, textura argilo arenosa, fase floresta sub-perenifólia, relevo plano a suavemente ondulado (platôs litorâneos).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com sete tratamentos (16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, SS 72/12 x 4RC<sub>1</sub>, RC<sub>2</sub>, SS 783 e Golden) e duas repetições. As mudas foram transplantadas para o campo em esquema de fileiras duplas com espaçamento definitivo de 1,5 m x 2,0 m x 3,6 m. As parcelas foram constituídas por 36, 33, 17, 24, 63, 15 e 15 plantas dos tratamentos "16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, SS 72/12 x 4RC<sub>1</sub>, RC<sub>2</sub>, SS 783 e Golden", respectivamente. A variação do número de plantas por parcela foi em função da disponibilidade de mudas e, as parcelas com 63 foi devido ser o RC<sub>2</sub> onde se precisou fazer seleção para realização do RC<sub>3</sub>. As adubações, o manejo, o controle de pragas e doenças e os tratos culturais utilizados foram os mesmos dos plantios comerciais da empresa Caliman Agrícola S/A.

Ao longo do ano de 2005, avaliaram-se as características da floração, da frutificação, os componentes de produção e os aspectos qualitativos dos frutos, conforme descrito a seguir:

##### **a) Altura de planta (AP)**

Essa característica foi expressa em cm, determinada com uma régua graduada em cm, do nível do solo até o último par de folhas, aos 140 (AP1) e aos 260 (AP2) dias após o transplântio (DAT) das mudas para o campo.

**b) Diâmetro do caule (DC)**

Característica expressa em cm, determinado a 10 cm e a 20 cm do nível do solo aos 140 DAT (DC1) e aos 260 DAT (DC2), respectivamente. Essas mensurações foram realizadas por meio de um paquímetro digital.

**c) Altura de inserção do primeiro fruto (AIPF)**

Característica expressa em cm, determinada por meio de uma régua graduada em cm, do nível do solo até o ponto de inserção do primeiro fruto, aos 140 DAT.

**d) Número de flores totais (NFT)**

O número de flores totais foi determinado por meio da contagem de todas as flores de plantas hermafroditas individualmente, aos 140 DAT (NFT1) e aos 260 DAT (NFT2). Para tanto, consideram-se as flores, nos diferentes estágios de desenvolvimento, capazes de possibilitar a distinção entre flores normais e suas variações para feminina estéril e deformada (carpelóides ou pentândricas).

**e) Número de flores deformadas (NFD)**

O número de flores deformadas foi determinado por meio da contagem de todas as flores deformadas em plantas hermafroditas individualmente, aos 140 DAT (NFD1) e 260 DAT (NFD2). O NFD representa o somatório das flores carpelóides e pentândricas.

**f) Número de flores estéreis (NFE)**

O número de flores femininas estéreis (gineceu rudimentar) foi determinado por meio da contagem de todas as flores estéreis em plantas hermafroditas individualmente, aos 140 DAT (NFE1) e aos 260 DAT (NFE2).

**g) Número de flores normais (NFN)**

O número de flores hermafroditas normais (elongatas) foi determinado subtraindo-se as flores estéreis e deformadas do número de flores totais, aos 140 DAT (NFN1) e aos 260 DAT (NFN2).

**h) Número de frutos totais (NFrT)**

O número de frutos totais foi determinado por meio da contagem de todos os frutos de plantas hermafroditas individualmente, aos 140 DAT (NFrT1) e aos 240 DAT (NFrT2).

**i) Número de frutos carpelóides (NFrC)**

Determinado por meio da contagem de todos os frutos carpelóides de plantas hermafroditas individualmente, aos 140 DAT (NFrC1) e aos 240 DAT (NFrC2).

**j) Número de frutos pentândricos (NFrP)**

Determinado por meio da contagem de todos os frutos pentândricos de plantas hermafroditas individualmente, aos 140 DAT (NFrP1) e aos 240 DAT (NFrP2).

**k) Número de frutos comerciais (NFrCom)**

O número de frutos comerciais foi determinado subtraindo-se os frutos os frutos carpelóides e pentândricos do número de frutos totais, aos 140 DAT (NFrCom1) e aos 240 DAT (NFrCom2).

**l) Peso médio de frutos (PMFr)**

O peso médio de frutos comerciais foi expresso em kg, obtido por meio da pesagem, em balança analítica, de uma amostra de três frutos por planta no estágio de maturação 1.

**m) Comprimento médio de frutos (CMFr)**

O comprimento médio de fruto foi determinado por meio de um paquímetro, em três frutos por planta e expresso em mm.

**n) Diâmetro médio de frutos (DMFr)**

O diâmetro médio de fruto foi determinado por meio de um paquímetro, em três frutos por planta e expresso em mm. Para essa medida, foi considerada a região equatorial do fruto (central).

#### **o) Produção por planta (Prod/Plt)**

A produção de frutos por planta foi determinada multiplicando-se o número de frutos comerciais, aos 240 DAT, pelo peso médio de uma amostra de três frutos e expressa em kg.

#### **p) Firmeza externa de fruto (FEFr)**

Determinada por meio de um penetrômetro de bancada (Fruit Pressure Tester, Italy: modelo 53205) e expressa em Newtons (N). Para tanto, foram utilizados três pontos equidistantes na região equatorial (central) de uma amostra de três frutos por planta.

#### **q) Firmeza interna de fruto (FIFr)**

Após a divisão do fruto ao meio, no sentido transversal, na região equatorial (central), a firmeza interna foi determinada por meio de um penetrômetro de bancada (Fruit Pressure Tester, Italy: modelo 53205) e expressa em Newtons (N). Para tanto, foram utilizados três pontos equidistantes a aproximadamente 0,5 cm da casca de uma amostra de três frutos por planta.

#### **r) Teor de sólidos solúveis (°BRIX)**

Obtido por meio de um refratômetro portátil Atago N1 e expresso em °Brix, em uma amostra de três frutos por planta.

### **3.3.4.3. Análise estatística dos dados**

A análise estatística das características morfoagronômicas e qualitativas de frutos foi realizada por meio do programa GENES (Cruz, 2001) e do MICROSOFT EXCEL (2000).

#### **3.3.4.3.1. Análise de variância**

Realizaram-se as análises de variância para cada uma das características avaliadas e testaram as seguintes hipóteses:

$H_0: T_1 = T_2 = T_3 = \dots = T_n$  e  $H_1 = \text{não } H_0$ .

O modelo estatístico adotado foi o seguinte:  $Y_{ijk} = \mu + t_i + b_j + e_{ij} + \delta_{ijk}$

Em que:

$\mu$  = média geral dos tratamentos;

$t_i$  = efeito fixo do  $i$ -ésimo genótipo ( $i = 1, 2, 3, \dots, t$ );

$b_j$  = efeito do  $j$ -ésimo bloco ( $j = 1$  e  $2$ );

$e_{ij}$  = Erro experimental associado à observação  $Y_{ij}$ .

$\partial_{ijk}$  = efeito fenotípico da variação entre plantas dentro da parcela.

O esquema da análise de variância, com os quadrados médios e respectivas esperanças dos quadrados médios, está apresentado no Quadro 1.

Quadro 1. Esquema da análise de variância das características morfoagronômicas e qualitativas de fruto em gerações segregantes e em genótipos elites de mamoeiro.

FV	GL	QM	EQM	F
Bloco	(b-1)	QMB	-	-
Genótipo	(g-1)	QMG	$s_d^2 + p s^2 + pb \Phi_G$	QMG/QMBG
Erro	(b-1)(g-1)	QMBG	$s_d^2 + p s^2$	
Planta/Genótipo	(p-1)bg	QMP	$s_d^2$	

Em que:

$b$  = número de blocos;

$g$  = número de genótipos (tratamentos);

$p$  = número de plantas por tratamento;

$s_d^2$  = componente de variância de planta dentro de genótipo;

$\Phi_G$  = componente de variabilidade genotípica;

$s^2$  = componente de variância residual de parcela.

### 3.3.4.3.2. Parâmetros genéticos (Fehr, 1987)

a) Variância fenotípica ( $\hat{\sigma}_F^2$ )

$$\hat{s}_F^2 = \frac{QMG}{pb}$$

b) Variância experimental ( $\hat{s}_E^2$ )

$$\hat{s}_E^2 = \frac{QMBG}{p}$$

c) Variabilidade genotípica ( $\hat{\Phi}_G$ )

$$\hat{\Phi}_G = \frac{QMG - QMBG}{pb}$$

d) Coeficiente de determinação genotípica ( $H^2$ )

$$H^2 = \frac{QMG - QMBG}{QMG}$$

e) Coeficiente de variação genotípico ( $C\hat{V}_g$ )

$$C\hat{V}_g = \frac{100\sqrt{QMG - QMBG / pb}}{\hat{m}}$$

f) Coeficiente de variação experimental ( $C\hat{V}_e$ )

$$C\hat{V}_e = \frac{100\sqrt{QMBG / p}}{\hat{m}}$$

g) Índice de variação ( $I_v$ )

$$I_v = \frac{C\hat{V}_g}{C\hat{V}_e}$$

### 3.3.4.3.3. Seleção combinada e direta dentro de tratamento

Em função do reduzido número de tratamentos segregantes (cinco), procedeu-se a seleção apenas dentro de tratamentos. Dado a limitação em calcular as matrizes de variância e covariância genética no presente trabalho (delineamento experimental tipo 1, ou seja, modelo fixo em que se considera o efeito de genótipo como fixo), necessárias para utilização dos índices clássicos de seleção, realizou-se inicialmente a seleção combinando seis características simultaneamente (seleção combinada): número de frutos carpelóides (NFrC), número de frutos pentândricos (NFrP), número de flores estéreis (NFE), número de flores normais (NFN), produção de frutos comerciais por planta (Prod/Plt) e teor de sólidos solúveis ( $^{\circ}$ Brix). A essas características foram atribuídos pesos associados aos valores agronômicos e obtido um índice, conforme descrito a seguir: NFrC (-10), NFrP (-10), NFE (-10), NFN (100), Prod/Plt (100) e BRIX (50). As demais características foram consideradas como auxiliares e receberam peso



igual a zero. Essa relação de pesos, que é desprovida de qualquer conotação econômica, foi estabelecida experimentalmente considerando o conhecimento a respeito da importância agrônoma das características avaliadas, conforme sugere Moraes (1992), citado por Rodríguez et al. (1998).

Para realização da seleção combinada, após a obtenção dos valores do índice em cada tratamento, realizou-se a classificação dos indivíduos em ordem decrescente e estabeleceu-se uma pressão de seleção variando de 10% a 20% em função do número de plantas disponíveis. Vale destacar que nessa etapa, além da produção de frutos comerciais (Prod/Plt), estão sendo valorizadas as demais características favoráveis e reduzidas as características desfavoráveis ao melhoramento genético do mamoeiro.

A seleção direta para Prod/Plt foi realizada considerando a superioridade das plantas em relação a essa característica, dentro de cada tratamento, com os mesmos valores de pressão de seleção utilizados no procedimento de seleção combinada.

#### 3.3.4.3.4. Determinação do ganho genético

Para determinação do ganho genético combinado e do ganho genético direto para Prod/Plt, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\Delta_G = h^2 \times \Delta_S \text{ onde,}$$

$\Delta_G$  = ganho genético;

$h^2$  = herdabilidade no sentido amplo;

$\Delta_S$  = diferencial de seleção.

A herdabilidade no sentido amplo ( $h^2$ ) foi obtida da seguinte forma:

$$h^2 = (\hat{s}_F^2 - \hat{s}_A^2) / \hat{s}_F^2 \text{ onde,}$$

$\hat{s}_F^2$  = Variância fenotípica de cada tratamento, onde a variação pode ser atribuída às causas genéticas e ambientais;

$\hat{s}_A^2$  = Variância ambiental, determinada nos tratamentos 6 ('Golden') e 7 ('SS 783'), onde a variação é toda atribuída às causas não genéticas.

### 3.3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância apresentada na Tabela 1 mostrou diferenças significativas, pelo teste F, entre os tratamentos, para maioria das características avaliadas, indicando a disponibilidade de variabilidade genética entre os tratamentos. Somente para as características “NFN1 – número de flores normais aos 140 dias após o transplântio (DAT), NFrT1 – número de frutos totais aos 140 DAT, NFrC1 - número de frutos carpelóides aos 140 DAT, NFrP1 - número de frutos pentândricos aos 140 DAT, NFrCom1 - número de frutos comerciais aos 140 DAT e °BRIX – teor de sólidos solúveis”, não houve significância pelo teste F. Contudo, há de se considerar que, com exceção do BRIX, as demais características em que não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, foram mensuradas preliminarmente com o intuito de realizar uma seleção branda dentro dos tratamentos segregantes, na fase inicial de frutificação.

O coeficiente de variação experimental ( $CV_e$ ) para a maioria das características situou-se abaixo de 20%, indicando uma boa precisão experimental. Contudo, houve valores altos para as características “NFD1 – número de flores de formadas aos 140 DAT (26,09%), NFE1 – número de flores estéreis aos 140 DAT (28,67%), NFrT1 aos 140 DAT (24,86%), NFrC2 – número de frutos carpelóides aos 240 DAT (23,53%) e NFrCom1 aos 140 DAT (25,71%)” e, muito altos para as características “NFE2 – número de flores estéreis aos 260 DAT (41,92%), NFrC1 aos 140 DAT (66,67%), NFrP1 aos 140 DAT (133,23%) e NFrP2 – número de frutos pentândricos aos 240 DAT (66,25%).

Tabela 1. Resumo da análise de variância das características morfoagronômicas e relativas à qualidade do fruto em gerações segregantes e em genótipos elites de mamoeiro, com os valores de quadrado médio de genótipos (QMG) e respectivas significâncias, médias, coeficiente de variação experimental ( $CV_e$ ) e coeficiente de variação genético ( $CV_g$ ).

Característica	QMG	Média	$CV_e$ (%)	$CV_g$ (%)
AP1	11633,16*	179,25	4,28	7,61
AP2	26862,69*	246,09	6,14	8,47
DC1	15,79*	9,71	3,25	5,04
DC2	20,02*	10,98	3,15	5,39
AIPF	3074,00**	74,97	4,98	9,98
NFT1	7207,94*	48,03	13,68	22,03
NFT2	2710,67**	16,35	12,26	44,70
NFD1	97,70**	1,15	26,09	115,36
NFD2	344,19**	2,28	19,15	115,79
NFE1	9459,92**	19,63	28,67	64,33
NFE2	986,64**	4,09	41,92	106,01
NFN1	1869,01 <sup>ns</sup>	27,25	19,14	16,83
NFN2	623,09**	10,06	13,50	34,26
NFrT1	414,64 <sup>ns</sup>	7,83	24,86	30,73
NFrT2	11695,90**	30,54	11,72	49,72
NFrC1	0,88 <sup>ns</sup>	0,15	66,67	66,67
NFrC2	22,46**	0,85	23,53	78,04
NFrP1	1,49 <sup>ns</sup>	0,13	133,23	108,78
NFrP2	110,68*	1,13	66,25	124,21
NFrCom1	310,53 <sup>ns</sup>	8,46	25,71	23,61
NFrCom2	13667,75**	28,87	9,61	57,41
PMFr	2,89**	0,62	3,22	45,62
CMFr	16887,48**	142,99	1,83	14,73
DMFr	6664,80**	93,51	1,28	14,18
Prod/Plt	818,03**	20,13	10,46	22,06
FEFr	3778,65**	114,22	3,50	8,86
FIFr	2111,92**	92,29	4,09	7,99
<sup>o</sup> BRIX	9,88 <sup>ns</sup>	11,40	3,28	3,82

AP1 = altura de planta em cm aos 140 DAT; AP2 = altura de planta em cm aos 260 DAT; DC1 = diâmetro de caule em cm aos 140 DAT; DC2 = diâmetro de caule em cm aos 260 DAT; AIPF = altura de inserção do primeiro fruto em cm aos 140 DAT; NFT1 = números de flores totais aos 140 DAT; NFT2 = números de flores totais aos 260 DAT; NFD1 = números de flores deformadas aos 140 DAT; NFD2 = números de flores deformadas aos 260 DAT; NFE1 = números de flores estéreis aos 140 DAT; NFE2 = números de flores estéreis aos 260 DAT; NFN1 = números de flores normais aos 140 DAT; NFN2 = números de flores normais aos 260 DAT; NFrT1 = número de frutos totais aos 140 DAT; NFrT2 = número de frutos totais aos 240 DAT; NFrC1 = número de frutos carpelóides aos 140 DAT; NFrC2 = número de frutos carpelóides aos 240 DAT; NFrP1 = número de frutos pentândricos aos 140 DAT; NFrP2 = número de frutos pentândricos aos 240 DAT; NFrCom1 = número de frutos comerciais aos 140 DAT; NFrCom2 = número de frutos comerciais aos 240 DAT; PMFr = peso médio de frutos em kg; CMFr = comprimento médio de frutos em mm; DMFr = diâmetro médio de frutos em mm; Prod/Plt = produção por planta em kg; FEFr = firmeza externa de fruto em N; FIFr = firmeza interna de fruto em N; <sup>o</sup>BRIX = teor de sólidos solúveis da polpa do fruto.

\*\* = significativo a 1% de probabilidade; \* = significativo a 5% de probabilidade; <sup>ns</sup> = não significativo.

De acordo com Pimentel-Gomes (2000), os coeficientes de variação dão uma idéia da precisão do experimento e, quando encontrados em ensaios agrícolas de campo, podem ser considerados baixos, quando inferiores a 10%, médios, quando de 10% a 20%, altos, quando de 20% a 30%, e muito alto, quando superior a 30%.

Os valores altos e muito altos de  $CV_e$ , observados no presente trabalho, são devidos em parte à ampla variação para essas características nos tratamentos, sobretudo naquelas características avaliadas aos 140 DAT, em que algumas plantas dentro de tratamento ou até mesmo o tratamento inteiro apresentavam completa ausência dessas variáveis. Mesmo as características avaliadas aos 240 DAT apresentaram essa mesma tendência, ou seja, existiram plantas em que NFrC2, NFE2 e NFrP2 foram ausentes. Essas características também parecem ser muito influenciadas pelo ambiente o que pode ter contribuído para os altos e muito altos  $CV_e$ . Há de se considerar ainda que, os coeficientes de variação genético ( $CV_g$ ) também elevados e, com exceção para NFrP1, superiores ao  $CV_e$  refletem uma ampla variabilidade genética para essas características, úteis para o melhoramento genético do mamoeiro.

Na Tabela 2, estão apresentadas as médias e suas respectivas diferenças mínimas significativas (DMS), das características morfoagronômicas e relativas à qualidade de frutos. Observa-se que para as características AP2 e AIPF, o tratamento 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> apresentou as menores médias, seguido pelo tratamento 16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>. Por outro lado, o tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> apresentou a maior média para essas características, bem como uma maior média para esterilidade feminina. De acordo com Nakasone e Lamoureux (1982), plantas muito altas são indesejáveis por apresentarem, geralmente, entrenós mais compridos, frutos mais espaçados e menor longevidade de colheita. Além disso, plantas hermafroditas estéreis e plantas masculinas, são quase sempre mais altas do que as plantas que tem menor expressão da esterilidade feminina.

Tabela 2. Valores médios das características morfoagronômicas e relativas à qualidade do fruto em gerações segregantes e em genótipos elites de mamoeiro e suas respectivas diferenças mínimas significativa a 5% de probabilidade (DMS).

Característica	Tratamentos							DMS (t, 5%)
	16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	52RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	115RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	SS 72/12 x RC <sub>1</sub>	RC <sub>2</sub>	Golden	SS 783	
AP1	161,67	162,95	192,76	185,77	190,15	178,77	187,57	26,56
AP2	224,31	218,79	272,94	267,45	261,47	245,00	258,67	52,38
DC1	9,10	9,56	9,47	10,23	9,98	9,02	10,63	1,12
DC2	10,45	11,02	10,96	11,65	10,75	10,36	12,44	1,20
AIPF	73,00	66,77	93,79	75,33	72,76	89,20	78,20	12,94
NFT1	41,52	51,95	75,51	46,00	50,59	30,00	35,43	22,77
NFT2	24,58	16,61	33,41	9,89	15,39	8,30	7,83	6,95
NFD1	0,09	1,59	0,00	0,00	2,75	0,00	0,30	1,05
NFD2	0,35	3,66	0,35	0,00	5,46	0,07	0,00	1,51
NFE1	23,82	21,80	52,48	16,08	16,16	3,53	4,70	19,50
NFE2	9,61	2,42	14,94	1,48	2,54	0,83	0,93	5,94
NFN1	17,60	28,56	23,03	29,91	31,69	26,47	30,43	-
NFN2	14,62	10,51	18,12	8,63	7,53	7,40	6,90	4,71
NFrT1	6,52	9,21	3,73	12,25	5,94	10,13	11,27	-
NFrT2	21,15	35,41	14,71	51,49	17,02	46,40	51,77	12,41
NFrC1	0,04	0,26	0,00	0,07	0,28	0,00	0,07	-
NFrC2	0,58	1,27	0,05	0,13	1,62	0,17	0,33	0,68
NFrP1	0,00	0,12	0,00	0,00	0,35	0,00	0,00	-
NFrP2	0,18	1,29	0,00	0,00	3,11	0,00	0,00	2,59
NFrCom1	7,06	9,11	6,47	12,73	6,30	10,13	11,20	-
NFrCom2	20,39	32,85	15,10	51,36	12,79	46,23	51,43	9,61

Tabela 2. Continuação.

Característica	Tratamentos							DMS (t, 5%)
	16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	52RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	115RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	SS 72/12 x RC <sub>1</sub>	RC <sub>2</sub>	Golden	SS 783	
PMFr	0,67	0,58	1,02	0,41	1,05	0,24	0,48	0,07
CMFr	153,25	137,11	209,05	127,72	167,82	115,16	131,42	9,07
DMFr	95,72	93,33	103,63	84,34	114,10	71,92	88,11	4,15
Prod/Plt	16,23	20,67	31,40	23,92	19,00	13,29	26,96	7,29
FEFr	114,23	119,50	94,07	105,41	131,48	105,48	104,80	13,87
FIFr	96,62	93,22	66,67	89,82	103,79	81,71	84,92	13,08
BRIX	11,62	11,50	12,27	11,86	11,33	11,23	10,24	-

AP1 = altura de planta em cm aos 140 DAT; AP2 = altura de planta em cm aos 260 DAT; DC1 = diâmetro de caule em cm aos 140 DAT; DC2 = diâmetro de caule em cm aos 260 DAT; AIPF = altura de inserção do primeiro fruto em cm aos 140 DAT; NFT1 = números de flores totais aos 140 DAT; NFT2 = números de flores totais aos 260 DAT; NFD1 = números de flores deformadas aos 140 DAT; NFD2 = números de flores deformadas aos 260 DAT; NFE1 = números de flores estéreis aos 140 DAT; NFE2 = números de flores estéreis aos 260 DAT; NFN1 = números de flores normais aos 140 DAT; NFN2 = números de flores normais aos 260 DAT; NFrT1 = número de frutos totais aos 140 DAT; NFrT2 = número de frutos totais aos 240 DAT; NFrC1 = número de frutos carpelóides aos 140 DAT; NFrC2 = número de frutos carpelóides aos 240 DAT; NFrP1 = número de frutos pentândricos aos 140 DAT; NFrP2 = número de frutos pentândricos aos 240 DAT; NFrCom1 = número de frutos comerciais aos 140 DAT; NFrCom2 = número de frutos comerciais aos 240 DAT; PMFr = peso médio de frutos em kg; CMFr = comprimento médio de frutos em mm; DMFr = diâmetro médio de frutos em mm; Prod/Plt = produção por planta em kg; FEFr = firmeza externa de fruto em N; FIFr = firmeza interna de fruto em N; °BRIX = teor de sólidos solúveis da polpa do fruto; - = refere-se às características em que não houve diferença significativa pelo teste F.

O NFD médio, que reflete a variação das flores hermafroditas para as formas carpelóides e pentândricas, foi maior nos tratamentos 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub> e, nulos, para o tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, nas duas avaliações. De forma semelhante, os valores médios das características NFrC e NFrP, que é resultante das flores deformadas, foram superiores nos tratamentos 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub> e inferiores no tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>. Contudo, estas características foram pouco expressivas nos tratamentos SS 783 e Golden, que são muito próximos geneticamente.

Em uma amostragem feita no inverno de 2003 em plantas hermafroditas do genótipo elite 'Sunrise Solo 783' (Damasceno Junior, 2004), cultivar utilizada no cruzamento inicial com o 'Cariflora' para a obtenção da população RC<sub>1</sub>, verifica-se que em média o NFD foi nulo, o NFE foi 6% maior do que no RC<sub>1</sub>, o NFrP foi nulo e o NFrC foi em torno de 1% menor do que no RC<sub>1</sub>. Portanto, pode-se deduzir que, provavelmente, a maior expressão das deformações florais, carpeloidia e pentandria dos frutos, verificadas nos tratamentos 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>, são herdadas do genitor 'Cariflora', uma vez que, na condição dióica (segregante), essas características jamais se expressariam nesse genótipo. Uma outra evidência a este respeito são os resultados observados no tratamento SS 72/12 x 4RC<sub>1</sub>, em que a expressão do NFD e do NFrP foi nula e reduzidas para o NFrC, nas duas avaliações. Este último tratamento é resultante de um cruzamento entre uma planta da população RC<sub>1</sub> (4), que em média possui 75% do genoma Cariflora, e uma planta da variedade SS 72/12, que é muito próxima geneticamente do SS 783. Portanto, o esperado é que o tratamento SS 72/12 x 4RC<sub>1</sub> possua em média 50% do genoma da variedade SS 72/12, 12,5% do genoma da variedade SS 783 e 37,5% do genoma do genótipo Cariflora.

O NFT e o NFE médios foram maiores aos 140 DAT do que aos 260 DAT, em todos os tratamentos e significativamente superiores no tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>. Fazendo-se uma relação entre o NFT e o NFE, observa-se que houve uma tendência de maior expressão da esterilidade feminina naqueles tratamentos com maior NFT, sobretudo no 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>.

Apesar de ter havido uma pronunciada variação do NFT e do NFE entre as duas avaliações, em todos os tratamentos, o NFN (NFT menos o somatório do NFE e do NFD) médio foi pouco variável nos tratamentos 16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, indicando uma maior estabilidade na expressão dessa característica para estes materiais. Observa-se também que, aos 140 DAT, de maneira geral, não houve

diferença significativa para NFN entre os tratamentos. Contudo, aos 260 DAT, houve diferença significativa para NFN entre os tratamentos, com uma tendência de superioridade dos materiais segregantes em relação aos genótipos elites 'Golden' e 'SS 783', sobretudo nos tratamentos 16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>.

A característica Prod/Plt (kg), resultante da multiplicação do NFrCom2 pelo PMFr, foi significativamente maior no tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, seguido pelo SS 783 e pelo SS 72/12 x 4RC<sub>1</sub>, porém, todos os tratamentos segregantes foram significativamente ou ligeiramente superiores ao Golden, uma das variedades mais plantadas nas regiões produtoras de mamão do Espírito Santo. Observando o PMFr, verifica-se que dentre os materiais segregantes, existe potencial para seleção de plantas tanto para produção destinada para o mercado interno, que exige frutos com peso entre 0,80 e 1,50 kg, quanto para o mercado externo, que exige frutos com peso em torno de 0,50 kg (Giacometti e Ferreira, 1988; citados por Marin, 2001).

As relações comprimento/diâmetro dos frutos, em média, foram de 1,60, 1,50, 2,02, 1,51, 1,50, 1,60 e 1,50 nos tratamentos 16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, SS 72/12 x 4RC<sub>1</sub>, RC<sub>2</sub>, Golden e SS 783, respectivamente. Observa-se que, apenas o tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> apresentou frutos com uma relação comprimento/diâmetro de aproximadamente 2:1, e, portanto, caracterizados como alongados. Os outros tratamentos apresentaram valores da relação comprimento/diâmetro do fruto acima de 1:1 (formato arredondado) e abaixo de 2:1 (engloba os demais formatos).

A forma e o tamanho dos frutos afetam a embalagem. Os frutos de formato piriforme ou alongado, oblongo ou ligeiramente oblongo, provenientes de plantas hermafroditas, são mais fáceis de serem embalados do que os frutos arredondados, provenientes de plantas femininas, além de apresentarem um maior valor comercial.

As estimativas das firmezas externa (FEFr) e interna (FIFr), no estágio de maturação 1, demonstraram uma significativa ou ligeira superioridade do tratamento RC<sub>2</sub> em relação aos demais e, que, o tratamento 115RC<sub>1</sub>S foi significativamente inferior. Contudo, com exceção dos tratamentos 115RC<sub>1</sub>S e SS 72/12 x 4RC<sub>1</sub>, todos os tratamentos segregantes foram significativamente ou moderadamente superiores aos genótipos elites "Golden e SS 783", indicando a possibilidade de seleção de plantas superiores para essas características. Essas



características apresentam uma relação direta com a resistência dos frutos ao transporte e, portanto, deve ser considerada nos programas de melhoramento do mamoeiro.

Para o teor de sólidos solúveis ( $^{\circ}$ BRIX), determinado no estágio de maturação 1, apesar de não ter havido diferença significativa entre os tratamentos, observa-se que os materiais segregantes foram ligeiramente superiores aos genótipos elites “Golden e SS 783”.

As estimativas de alguns parâmetros genéticos, importantes para os procedimentos de melhoramento genético das características avaliadas, são apresentadas na Tabela 3. De acordo com Cruz e Carneiro (2003), o uso de parâmetros genéticos no melhoramento de plantas possibilita identificar a variabilidade genética de uma população e avaliar a eficiência de diferentes estratégias de melhoramento para obtenção de ganhos genéticos e manutenção de uma base genética adequada.

Comparando-se as avaliações realizadas aos 140 DAT com aquelas realizadas aos 240 e 260 DAT, observa-se por meio do coeficiente de determinação genotípico ( $H^2$ ) e do índice de variação ( $I_v$ ) que, com exceção para altura de planta (AP), estas últimas foram mais efetivas em revelar a disponibilidade de variabilidade genética nas populações avaliadas neste trabalho, razão pela qual optou-se por estimar a produção por planta (Prod/Plt) com base no número de frutos comerciais da segunda avaliação (NFrCom2). O  $H^2$  não é um coeficiente de herdabilidade ( $h^2$ ), porém, seus elevados valores (acima de 80%) refletem uma expectativa de ganhos genéticos elevados nos procedimentos de seleção. Já o  $I_v$  representa a razão entre o coeficiente de variação genético ( $CV_g$ ) e o coeficiente de variação experimental ( $CV_e$ ) e seu valor superior à unidade também indica ampla variabilidade de uma população para determinada característica.

Analisando-se as características mensuradas aos 240 DAT, aos 260 DAT, a altura de inserção do primeiro fruto (AIPF) aos 140 DAT, além do peso médio de frutos (PMFr), comprimento médio de fruto (CMFr), diâmetro médio de fruto (DMFr), Prod/Plat, FEFr e FIFr, verifica-se que, com exceção para AP2, os valores de  $H^2$  foram superiores a 80% e os valores do  $I_v$  foram bastante elevados, indicando uma ampla variabilidade genética dos materiais genéticos segregantes, avaliados para essas características.

Tabela 3. Estimativa das variâncias fenotípica ( $\hat{S}_F^2$ ) e experimental ( $\hat{S}_E^2$ ), da variabilidade genotípica ( $\hat{\Phi}_G$ ), do coeficiente de determinação genotípico ( $H^2$ ) e do índice de variação ( $I_v$ ) de características morfoagronômicas e relativas à qualidade do fruto em gerações segregantes e em genótipos elites de mamoeiro.

Característica	$\hat{\sigma}_F^2$	$\hat{S}_E^2$	$\hat{\Phi}_G$	$H^2$	$I_v$
AP1	215,59	58,77	186,20	86,37	1,79
AP2	549,34	228,60	435,04	79,19	1,38
DC1	0,29	0,10	0,24	82,27	1,55
DC2	0,41	0,12	0,35	85,36	1,71
AIPF	63,00	13,96	56,03	88,92	2,00
NFT1	133,38	43,17	111,99	84,00	1,61
NFT2	55,43	4,02	53,42	97,00	3,65
NFD1	1,81	0,09	1,76	97,45	4,42
NFD2	7,07	0,19	6,97	98,65	6,05
NFE1	175,30	31,67	159,47	91,00	2,24
NFE2	20,27	2,94	18,80	92,75	2,53
NFN1	34,64	27,22	21,03	60,70	0,88
NFN2	12,80	1,84	11,88	92,79	2,54
NFrT1	7,68	3,79	5,79	75,30	1,24
NFrT2	236,99	12,82	230,58	97,00	4,24
NFrC1	0,02	0,01	0,01	70,00	1,00
NFrC2	0,46	0,04	0,44	95,81	3,32
NFrP1	0,03	0,03	0,02	53,00	0,82
NFrP2	2,26	0,56	1,97	87,78	1,87
NFrCom1	6,36	4,73	3,99	62,84	0,92
NFrCom2	278,59	7,69	274,74	98,62	5,97
PMFr	0,08	0,0004	0,08	99,75	14,53
CMFr	447,35	6,85	443,92	99,23	9,07
DMFr	176,55	1,43	175,83	99,59	11,08
Prod/Plt	21,95	4,43	19,73	89,89	2,11
FEFr	110,36	16,03	102,33	92,72	2,53
FIFr	61,54	14,26	54,40	88,41	1,95
°BRIX	0,26	0,14	0,19	73,68	1,16

AP1 = altura de planta em cm aos 140 DAT; AP2 = altura de planta em cm aos 260 DAT; DC1 = diâmetro de caule em cm aos 140 DAT; DC2 = diâmetro de caule em cm aos 260 DAT; AIPF = altura de inserção do primeiro fruto em cm aos 140 DAT; NFT1 = números de flores totais aos 140 DAT; NFT2 = números de flores totais aos 260 DAT; NFD1 = números de flores deformadas aos 140 DAT; NFD2 = números de flores deformadas aos 260 DAT; NFE1 = números de flores estéreis aos 140 DAT; NFE2 = números de flores estéreis aos 260 DAT; NFN1 = números de flores normais aos 140 DAT; NFN2 = números de flores normais aos 260 DAT; NFrT1 = número de frutos totais aos 140 DAT; NFrT2 = número de frutos totais aos 240 DAT; NFrC1 = número de frutos carpelóides aos 140 DAT; NFrC2 = número de frutos carpelóides aos 240 DAT; NFrP1 = número de frutos pentândricos aos 140 DAT; NFrP2 = número de frutos pentândricos aos 240 DAT; NFrCom1 = número de frutos comerciais aos 140 DAT; NFrCom2 = número de frutos comerciais aos 240 DAT; PMFr = peso médio de frutos em kg; CMFr = comprimento médio de frutos em mm; DMFr = diâmetro médio de frutos em mm; Prod/Plt = produção por planta em kg; FEFr = firmeza externa de fruto em N; FIFr = firmeza interna de fruto em N; °BRIX = teor de sólidos solúveis da polpa do fruto.

O  $H^2$  para altura de planta foi elevado na primeira avaliação e próximo de 80 % na segunda avaliação, porém o  $l_v$  foi superior à unidade em ambas as avaliações, qualificando essa característica como sendo de grande variabilidade genética nos tratamentos segregantes.

O °BRIX, determinado em fruto no estágio de maturação 1, apresentou um  $H^2$  inferior a 80%, porém, seu  $l_v$  superior a 1 indica que há variabilidade genética disponível nos materiais genéticos segregantes.

De acordo com os resultados das estimativas de parâmetros genéticos das características morfoagronômicas e relativas à qualidade de frutos, observa-se que a seleção nas gerações segregantes apresenta grandes possibilidades de sucesso por apresentarem ampla variabilidade genotípica com valores de  $h^2$  (herdabilidade no sentido amplo) superiores a 50% (com base em índice) (Tabela 4).

É importante, em qualquer programa de seleção, obter respostas favoráveis em todas as características de importância para o melhoramento genético. O índice clássico de seleção de Smith (1936) e Hazel (1943), entre outros, permite considerar várias características simultaneamente no processo de seleção. No entanto, a aplicação do índice de seleção no melhoramento vegetal, todavia, é dificultada, pois normalmente o melhorista considera características para as quais não é possível estabelecer pesos econômicos com nível de precisão pelo menos aceitável (Rodríguez et al., 1998). Morais (1992) sugere fixar experimentalmente pesos para os valores genéticos, relativos às características de interesse para seleção, de modo a permitir a identificação das unidades de seleção capazes de proporcionar ganhos no sentido desejado e com maior magnitude possível em todas as características de interesse.

Os resultados da Tabela 4 demonstram ganhos genéticos satisfatórios em todos os tratamentos, quando se utilizou a seleção com base em índice estabelecido pela combinação de seis características simultaneamente (seleção combinada), com destaque para o tratamento 3 (115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>) que apresentou ganho genético percentual igual a 99,24%. Com exceção para o tratamento 4 (SS 72/12 x 4RC<sub>1</sub>), todos os tratamentos apresentaram valores de ganho genético superiores a 40%. No entanto, esses ganhos refletem uma combinação de características e não dá idéia precisa do quanto está se ganhando em termos de produção de frutos comerciais (Prod/Plt). Portanto, estimou-se o ganho genético

combinado para Prod/Plt (Tabela 5), considerando apenas as plantas selecionadas com base em índice de seleção combinado.

Tabela 4. Estimativa do ganho genético com base em índice de seleção, combinando seis características de interesse agrônômico, simultaneamente, nos diferentes tratamentos.

Trat.	Xs	Xo	$\Delta_s$	$\hat{s}_F^2$	$\hat{s}_G^2$	$h^2$	$\Delta_G$	$\Delta_G$ (%)
1	8234,66	4388,06	3846,60	4612533,04	2583796,78	0,56	2154,09	49,10
2	9682,54	6049,58	3632,96	6603751,20	4575014,94	0,69	2506,74	41,44
3	7662,20	3221,58	4440,62	7212752,73	5184016,47	0,72	3197,25	99,24
4	9092,80	6517,50	2575,30	4269233,21	2240496,95	0,52	1339,16	20,55
5	8957,90	4466,35	4491,55	6136507,35	4107771,09	0,67	3009,34	67,38

Trat. = tratamento; 1 = 16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>; 2 = 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>; 3 = 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>; 4 = SS 72/12 x 4 RC<sub>1</sub>; 5 = RC<sub>2</sub>; Xs = média das plantas selecionadas; Xo = média original do tratamento;  $\Delta_s$  = diferencial de seleção;  $\hat{s}_F^2$  = variância fenotípica;  $\hat{s}_G^2$  = variância genotípica;  $h^2$  = coeficiente de herdabilidade;  $\Delta_G$  = ganho genético;  $\Delta_G$  (%) = ganho genético percentual.

Na Tabela 5 constam os resultados do ganho genético, estimado por meio da seleção direta e da seleção combinada para produção de frutos comerciais (Prod/Plt.). Para tanto, numa primeira estimação, consideraram-se as plantas selecionadas no tratamento como um todo (seleção direta) e, na segunda estimação, foram consideradas apenas as plantas selecionadas com base em índice de seleção combinando seis características simultaneamente (seleção combinada). Essa estratégia possibilitou fazer uma comparação entre o ganho genético direto e o combinado para Prod/Plt.

Observa-se na Tabela 5, que o ganho genético em todos os tratamentos foi maior quando não se considerou o índice de seleção combinando as seis características simultaneamente, sobretudo no tratamento 3, em que a diferença foi de 20,27 unidades percentuais. Contudo, há de se considerar que, apesar dessa redução no ganho genético, as estimativas considerando o índice de seleção combinado, valorizam, além da produção, as demais características favoráveis e reduzem as características desfavoráveis ao melhoramento genético do mamoeiro.

Tabela 5. Estimativa do ganho genético direto ( $\Delta_G$ ) e do ganho genético combinado ( $\Delta_{Gi}$ ) para produção de frutos comerciais (Prod/Plt), nos diferentes tratamentos segregantes.

Trat.	Xs	Xsi	Xo	$\Delta_s$	$\Delta_{si}$	$h^2$	$\Delta_G$	$\Delta_{Gi}$	$\Delta_G$ (%)	$\Delta_{Gi}$ (%)
1	30,30	22,45	16,24	14,05	6,21	0,28	3,93	1,74	24,20	10,71
2	35,76	33,78	20,67	15,09	13,11	0,45	6,79	5,90	32,85	28,54
3	49,33	42,30	31,40	17,92	10,89	0,86	15,41	9,36	49,08	28,81
4	36,75	33,52	23,92	12,83	9,59	0,30	3,85	2,88	16,09	12,04
5	32,21	27,43	19,01	13,20	8,42	0,63	8,32	5,30	43,77	27,88

Trat. = tratamento; 1 = 16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>; 2 = 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>; 3 = 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>; 4 = SS 72/12 x RC<sub>1</sub>; 5 = RC<sub>2</sub>; Xs = média das plantas selecionadas (seleção direta); Xsi = médias das plantas selecionadas com base em índice (seleção combinada); Xo = média original do tratamento;  $\Delta_s$  = diferencial de seleção direta;  $\Delta_{si}$  = diferencial de seleção com base em índice (combinado);  $h^2$  = coeficiente de herdabilidade;  $\Delta_G$  = ganho genético direto;  $\Delta_{Gi}$  = ganho genético combinado, com base em índice;  $\Delta_G$  (%) = ganho genético direto percentual;  $\Delta_{Gi}$  (%) = ganho genético combinado percentual, com base em índice.

O elevado ganho genético verificado no tratamento 3, considerando o índice de seleção combinado (Tabela 4), pode ser atribuído em parte ao alto índice de flores estéreis das plantas (Tabela 2) e ao fato de que durante as avaliações para produção de frutos, algumas plantas sequer haviam frutificado. Portanto, o ganho genético estimado nesse tratamento, considerando uma pressão de seleção de 15,50%, foi muito próximo ao valor da média original e indica que a seleção realizada será efetiva em reduzir as características indesejáveis, sobretudo esterilidade feminina, e favorecer as características desejáveis, na próxima geração. Essa tendência é mais bem ilustrada quando se compara o ganho genético da seleção direta com o ganho genético da seleção combinada para Prod/Plt. Nesta comparação, observa-se uma redução do ganho genético percentual de 49,08%, considerando a seleção direta, para 28,81%, considerando a seleção combinada, com base em índice de seleção combinado (Tabela 5).

O tratamento 4, de maneira geral, foi o que apresentou as menores estimativas de ganhos genéticos percentuais. Isso se deveu, provavelmente, ao fato de este tratamento ter se comportado como próximo a uma geração F<sub>1</sub>, dado à configuração do cruzamento realizado para obtê-lo (SS 72/12 x 4RC<sub>1</sub>). Contudo, é provável que, em se avaliando as próximas gerações provenientes das plantas

selecionadas nesta etapa, observe-se uma maior segregação para as características avaliadas e, portanto, maiores estimativas de ganhos genéticos.

Comparando-se os ganhos genéticos direto e combinado para Prod/Plt nos tratamentos 2 e 4, verifica-se que, as diferenças entre o ganho genético com base na seleção direta e o ganho genético com base na seleção combinada para Prod/Plt, por meio do índice de seleção combinando seis características, simultaneamente, foram de 4,31 e 4,05 unidades percentuais, respectivamente (Tabela 5). Isso indica que a seleção direta para produção de frutos comerciais nesses tratamentos foi tão efetiva quanto a seleção combinada, em que se considerou o índice de seleção combinando seis características simultaneamente. Por outro lado, nos demais tratamentos, houve uma redução pronunciada do ganho genético, estimado para produção de frutos comerciais, da seleção direta para a seleção combinada.

Embora tenha havido redução do ganho genético estimado por meio da seleção combinada, em relação ao ganho genético estimado por meio da seleção direta para Prod/Plt, em maior ou menor proporção, deve ser considerado que a seleção combinada para Prod/Plt, baseada em índice de seleção combinado, provavelmente será mais efetiva, pois gera uma expectativa de que as características desfavoráveis serão reduzidas e as características favoráveis serão valorizadas.

De acordo com os resultados da análise de variância, das estimativas de parâmetros genéticos e dos ganhos genéticos obtidos pelas diferentes estratégias de seleção, pode-se deduzir que os materiais genéticos segregantes dispõem de variabilidade genética para as características avaliadas e, portanto, são promissores para o avanço de gerações com uma expectativa de obtenção de linhagens superiores em curto e médio prazo. Portanto, com base nestes resultados, foram recomendados o avanço de gerações com 30 plantas, selecionadas em um total de 345 plantas, contemplando todos os tratamentos segregantes.

### 3.3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Conover, R.A., Litz, R.E., Malo, S.E. (1986) Cariflora, a papaya for South Florida with tolerance to papaya ringspot virus. Florida: Agricultural Experiment Station, University of Florida, (Circular, 329), 3p.
- Cruz, C.D. (2001) Programa Genes (Versão Windows): aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 648p.
- Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S. (2003) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, v.2, 585p.
- Damasceno Junior, P.C. (2004) Estudo reprodutivo em mamoeiro (*Carica papaya* L.). Dissertação de mestrado, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 74p.
- Fehr, W. R. (1987) Principles of cultivar development: Theory and Technique. Iowa State University, v.1, 525p.
- Hazel, L.N. (1943) The genetic basis for constructing selection indexes. *Genetics*, Bethesda, 33:476-490.
- Manica, I. (1996) Cultivares e melhoramento do mamoeiro. In: Mendes, L.G., Dantas, J.L.L., Morales, C.F.G. Mamão no Brasil. Cruz das Almas: EUFBA/EMBRAPA-CNPMF, p.93-120.
- Marin, S.L.D. (2001) Melhoramento genético do mamoeiro (*Carica papaya* L.): Habilidade combinatória de genótipos dos grupos 'Solo' e 'Formosa'. Tese de Doutorado, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 117p.
- Marin, S.L.D., Gomes, J.A., Salgado, J.S. (1986) Recomendações para a cultura do mamoeiro cv. Solo no Estado do Espírito Santo. 2.ed. Belo Horizonte: EMCAPA, 62p. (Circular Técnica, 2).

- Morais, O.P. (1992) Análise multivariada da divergência genética dos progenitores, índices de seleção combinada numa população de arroz oriunda de intercruzamentos, usando macho esterilidade. Viçosa: UFV, 251p. Tese de Doutorado.
- Morais, O.P., Silva, J.C., Cruz, C.D., Regazzi, A.J., Neves, P.C.F. (1997) Estimação dos parâmetros genéticos da população de arroz irrigado CNA-IRAT 4/0/3. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 32:421-433.
- Nakasone, H.Y., Lamoureux, C. (1982) Transitional forms of hermaphroditic papaya flowers leading to complete maleness. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 107 (4):589-592.
- Nehmi, I.M.D, Ferraz, J.V., Nehmi Filho, V.A., Silva, M.L.M. da (2002) Consultoria & Comércio 2002. In: AGRIANUAL 2003: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP, p.378-386.
- Pimentel-Gomes, F. (2000) Curso de estatística experimental. 14.ed. Piracicaba: Nobel, 477p.
- Rodríguez, R.E.S, Rangel, P.H.N., Moraes, O.P. (1998) Estimativas de parâmetros genéticos e de respostas à seleção na população de arroz irrigado CNA 1. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 33:685-691.
- Rolim, S.G., Couto, H.T.Z., Jesus, R.M. (1999) Mortalidade e recrutamento de árvores na Floresta Atlântica de Linhares (ES). Scientia Forestalis 55:49-69.
- Smith, H.F. (1936) A discriminant function for plant selection. Annals of Eugenics, Cambridge, 7:240-250.



### **3.4. CONVERSÃO SEXUAL EM GENÓTIPO ELITE DE MAMOEIRO ASSISTIDA POR MARCADORES DE DNA**

### 3.4.1. RESUMO

O retrocruzamento é um método de melhoramento genético amplamente utilizado quando se tem uma boa cultivar, deficiente em uma ou poucas características. Entretanto, por ter-se que retrocruzar a  $F_1$ , a fim de se recuperar o genótipo do genitor recorrente, é um método demorado. Uma das possibilidades de utilizar a seleção assistida por marcadores de DNA foi exatamente no método do retrocruzamento. Os marcadores de DNA podem ser utilizados de dois modos: para acelerar a recuperação do genoma do genitor recorrente e para auxiliar na eliminação dos alelos do genitor doador que estão ligados com o (s) loco (s) de interesse para os melhoristas. O mamoeiro cultivado (*Carica papaya* L.) apresenta três formas básicas de flores: femininas, masculinas e hermafroditas e é amplamente aceito que a herança do sexo nesta espécie é monogênica, com três alelos designados pelos símbolos  $m$ ,  $M^1$  e  $M^2$ . Nesse contexto, o presente trabalho objetivou realizar a conversão sexual do genótipo de mamoeiro 'Cariflora' do seu estado dióico (plantas femininas e masculinas) para ginóico-andromonóico (plantas femininas e hermafroditas), por meio da introgressão do alelo  $M^2$ , responsável pelo hermafroditismo no mamoeiro, assistido pelos marcadores de DNA. O genitor doador do alelo  $M^2$  foi a cultivar 'SS 783' do grupo Solo. As duas gerações de retrocruzamento ( $RC_1$  e  $RC_2$ ) foram plantadas no campo de produção comercial da empresa CALIMAN AGRÍCOLA S/A – Linhares/ES, em 25 de março de 2003 e 25 de janeiro de 2004, respectivamente. Em ambas as gerações foram realizadas a genotipagem molecular por meio dos marcadores AFLP ( $RC_1$ ) e RAPD ( $RC_2$ ) e a fenotipagem para a maioria das características

agronômicas. Contudo, por inconsistência dos resultados de AFLP, optou-se por realizar a seleção da planta para geração do RC<sub>2</sub> somente com base nas observações fenotípicas (planta 79). Para tanto foram utilizadas 94 e 87 plantas, das gerações RC<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>, respectivamente. A matriz de dissimilaridade genética, obtida pelos marcadores RAPD, na geração RC<sub>2</sub>, possibilitou estimar a distância média entre o genitor recorrente e as plantas RC<sub>2</sub>, selecionadas para o hermafroditismo, onde se verificou que a média do genoma recorrente nesta geração foi de 75,7%, quando o esperado era 87,5%. Com base no dendrograma de dissimilaridade genética dos 87 indivíduos RC<sub>2</sub> e dos genitores recorrente (1) e doador (2), obtido por meio de 54 marcadores RAPD e com base nas observações fenotípicas, selecionaram-se as plantas representadas pelos números 18 e 89 para recombinar com 10 plantas femininas do genótipo dióico 'Cariflora'. A matriz de divergência genética, com base nas 54 marcas RAPD, indica uma semelhança entre o genitor recorrente e as plantas representadas pelos números 15, 18 e 89, de 84%, 81% e 76%, respectivamente. Contudo, a planta 15 foi eliminada por motivos fitossanitários. A decisão final sobre qual das populações recombinadas ('Cariflora' x 18 ou 'Cariflora' x 89) será utilizada como referencial para os trabalhos de melhoramento futuros dependerá do desempenho fenotípico de ambas. Não há razão para discordar que na próxima geração de retrocruzamento (RC<sub>3</sub>), proveniente da recombinação das plantas 18 e 89 com 10 plantas femininas do 'Cariflora', haja uma recuperação de aproximadamente 95% do genoma recorrente. Contudo, proporções menores que 95% não resultaria em prejuízos ao programa de melhoramento, uma vez que o genitor doador é um material genético cultivado.

### 3.4.2. ABSTRACT

The backcross is a genetic breeding method widely used when it is available a good cultivar, deficient in one or a few characteristics. However, the need of backcrossing an  $F_1$  in such a way to recover the genotype of the recurrent genitor is a slow procedure. One of the possibilities of using the DNA markers was exactly the backcross method. The DNA markers may be utilized in two ways: to speed up the genome recovering of the recurrent genitor and to assist on the elimination of alleles from the donor parent that are linked to the loci of interest to the breeder. The cultivated papaya (*Carica papaya* L.) presents three basic forms of flowers: female, male and hermaphrodites, and it is widely accepted that the sex inheritance in this species is monogenic, with three alleles designated by the symbols  $m$ ,  $M^1$  and  $M^2$ . On this context, the present work had the objective to sexually convert the papaya genotype 'Cariflora', from its dioiceus condition (female and male plants) to ginoic-andromonoic condition (female and hermaphrodite plants), by means of the introgression of the  $M^2$  allele, responsible by the hermaphroditism in papaya, assisted by the DNA markers. The donor genitor of the  $M^2$  allele was the cultivar 'SS783' from the Solo group. The two backcross generations ( $BC_1$  and  $BC_2$ ) were cropped in the commercial area of the CALIMAN AGRÍCOLA Company, in Linhares-ES, in March 25 of 2003 and in January 25 of 2004, respectively. In both generations it was performed the molecular genotyping by mean of the AFLP ( $BC_1$ ) and RAPD ( $BC_2$ ) markers and performed the phenotyping for most of the agronomic traits. However, in reason of the inconsistent results from the AFLP procedure, the alternative was to conduct

the selection of the BC<sub>1</sub> plant, to obtaining the BC<sub>2</sub> generation only based on the phenotypic observations (plant n° 79). To do so, it was used 94 and 87 plants from the BC<sub>1</sub> and BC<sub>2</sub> generations respectively. The dissimilarity matrix obtained from the RAPD markers, in the BC<sub>2</sub> generation permitted to estimate the average distance between the recurrent genitor and the BC<sub>2</sub> hermaphrodite plants, where it was verified that the average of recurrent genome in this generation was of 75.7%, when the expected would be 87.5%. Based on the genetic dissimilarity dendrogram of the 87 BC<sub>2</sub> individuals and the recurrent (1) and donor (2) genitors, obtained by 54 RAPD markers, and based on the phenotypic observations, the individuals number 18 and 89 were selected to Backcross with 10 'Cariflora' female individuals. The genetic divergence matrix, based on the 54 RAPD markers, indicated a similarity between the recurrent genitor and the individuals number 15, 18 and 89, of 84%, 81% and 76%, respectively. However the individual number 15 was eliminated due to disease occurrence. The final decision about which recombined population ('Cariflora' x 18 or 'Cariflora' x 89) will be used as a reference for the future breeding procedures will depend on the phenotypic performance of both populations. There is no reason to disagree that on the next generation (BC<sub>3</sub>), coming from the recombination of the individuals 18 and 89 with 10 'Cariflora' female plants, the genome recovering of the recurrent genitor would be about 95%. However, smaller proportion than 95% does not result in damage to the breeding program once the donor parent is an elite genotype.

### 3.4.3. INTRODUÇÃO

O mamoeiro cultivado (*Carica papaya* L.) apresenta três formas básicas de flores: femininas, masculinas e hermafroditas. De acordo com Hofmeyr (1938) e Storey (1938), a herança do sexo nesta espécie é monogênica, com três alelos designados pelos símbolos  $m$ ,  $M^1$  e  $M^2$ . Storey (1953), estabeleceu que as combinações dominantes,  $M^1M^1$ ,  $M^2M^2$  e  $M^1M^2$ , são letais zigóticos. Segundo Storey (1941), os indivíduos portadores dos genótipos  $mm$ ,  $M^1m$  e  $M^2m$ , são denominados ginóicos (femininos), andróicos (masculinos) e andromonóicos (hermafroditas), respectivamente. As populações oriundas desses diferentes tipos de indivíduos distinguem-se em: a) populações dióicas – somente plantas com flores femininas (ginóica) e plantas com flores masculinas (andróicas); b) populações ginóicas-andromonóicas – constituída por plantas com flores femininas e plantas com flores hermafroditas (andromonóicas); c) populações andromonóicas-trióicas, nas quais encontramos plantas com flores femininas, plantas com flores hermafroditas e plantas com flores masculinas.

As cultivares de mamoeiro em muitas partes do mundo são do tipo dióico (Arkle Junior e Nakasone, 1984), sendo os frutos femininos aproveitados para o consumo da fruta fresca ou para extração da enzima papaína. No entanto, no Brasil, os frutos piriformes produzidos pelas plantas hermafroditas são favorecidos sobre os frutos esféricos produzidos pelas plantas femininas, destinando-se aos mercados interno e externo.

No Brasil, o mamoeiro cultivado sustenta-se em uma estreita base genética, resultando em uma limitação de alternativas quando da escolha de

cultivares e/ou híbridos comerciais para o plantio que atendam tanto as exigências do mercado nacional quanto internacional (Marin, 2001). O autor destaca que, uma alternativa viável para resolver este problema, dentre outros, é recorrer à ampliação da base genética do mamoeiro, por meio de programas de melhoramento utilizando hibridações. Nesse contexto, este mesmo autor, avaliando as capacidades combinatórias geral (CGC) e específica (CEC) em mamoeiro dos grupos Solo, Formosa e Dióico, verificou que o genótipo dióico Cariflora apresenta excelente capacidade geral e específica de combinação quando cruzado com genótipos do grupo Solo. Contudo, em se tratando de um material dióico, não há como aproveitá-lo para o desenvolvimento de progenitores endogâmicos. Visando contornar essa limitação, optou-se por realizar a conversão sexual deste material genético por meio da introgressão do gene  $M^2$ , (responsável pelo hermafroditismo no mamoeiro), via retrocruzamento assistido pelos marcadores de DNA.

O retrocruzamento é utilizado quando se deseja agrupar uma ou duas características de herança simples a uma cultivar com características suficientemente satisfatórias. Para tanto, devem ser feitos vários retrocruzamentos até que seja obtido o resultado desejado. Após estes cruzamentos, o gene (ou genes) que está sendo transferido estará na condição heterozigota, o mesmo não ocorrendo com os demais genes. Quando o objetivo é a transferência de um gene dominante, após o último retrocruzamento procede-se a autofecundação, que o coloca em homozigose. Por outro lado, quando se busca a transferência de um gene recessivo, os retrocruzamentos são intercalados com autofecundações. Procedendo-se dessa forma, será obtido um material com as mesmas qualidades do pai recorrente, sendo, contudo, superior a este pai na característica específica para a qual o programa foi objetivado (Allard, 1971).

A opção entre a seleção assistida ou convencional é uma decisão difícil em qualquer programa de melhoramento, uma vez que os parâmetros avaliados, muitas vezes, não são facilmente comparáveis. Dentre os pontos a serem considerados estão a relação custo-benefício de cada estratégia e disponibilidade de recurso técnico-financeiros para execução delas. Um programa de retrocruzamento assistido por marcadores possui basicamente dois objetivos: monitorar a característica de interesse e reduzir o tempo necessário para a recuperação do genoma do genitor recorrente (Guimarães et al., 2006).

O objetivo deste trabalho foi realizar a conversão sexual do genótipo 'Cariflora', do estado dióico (população com plantas femininas e masculinas) para o ginóico-andromonóico (população com plantas femininas e hermafroditas), por meio da introgressão do alelo  $M^2$  (responsável pelo hermafroditismo no mamoeiro) assistida pelos marcadores de DNA.



### 3.4.4. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.4.4.1. Material vegetal

Neste trabalho, foram utilizadas plantas hermafroditas das gerações RC<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>. Inicialmente foi realizado um cruzamento entre o genótipo dióico 'Cariflora' (recorrente) e a variedade elite 'Sunrise Solo 783' (doadora do alelo *M<sup>2</sup>*). Posteriormente, realizaram-se os retrocruzamentos com 'Cariflora' (RC<sub>1</sub>) e (RC<sub>2</sub>), obtendo-se as gerações segregantes para o sexo (hermafrodita e feminina) e para as demais características fenotípicas. Para a etapa de genotipagem molecular, foram coletadas folhas em bulk dos genitores e de plantas individual da geração RC<sub>2</sub>.

O genótipo 'Cariflora' é uma seleção dióica com frutos de polpa amarela e com moderada firmeza, e peso médio em torno de 1,67 kg, além de um agradável sabor e aroma (Conover *et al.*, 1986). Seu cruzamento com genótipos do grupo 'Solo' resulta em híbridos muito vigorosos e produtivos, porém, bastante heterogêneos, pois apresenta um elevado grau de locos em heterozigose. Por outro lado, o genótipo 'SS 783' é uma variedade elite com fruto piriforme pesando em média 0,52 kg, polpa vermelha e de boa qualidade.

#### 3.4.4.2. Instalação e avaliação dos experimentos

Este trabalho foi realizado em duas etapas constituídas pelas gerações RC<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>. As duas gerações de retrocruzamento foram plantadas no campo de produção comercial da empresa CALIMAN AGRÍCOLA S/A – LINHARES/ES, em 25 de março de 2003 e 25 de janeiro de 2004, respectivamente. No primeiro

ensaio adotou-se o espaçamento definitivo de 1,5 m entre plantas por 3,6 m entre fileiras simples e, no segundo ensaio, utilizou-se o sistema de fileiras duplas em espaçamento definitivo de 1,5 m x 2,0 m x 3,6 m. As adubações, o manejo, o controle de pragas e doenças e os tratos culturais utilizados foram os mesmos dos plantios comerciais da empresa Caliman Agrícola S/A.

Foram fenotipadas 94 e 87 plantas hermafroditas RC<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>, aos 180 dias após o transplântio (DAT) e 140 DAT, respectivamente. As características avaliadas foram as seguintes: altura de plantas em m (AP), diâmetro de caule em cm (DC), altura de inserção do primeiro fruto em cm (AIPF), números de flores totais (NFT), número de flores deformadas (NFD), número de flores estéreis (NFE), número de flores normais (NFN), número de frutos totais (NFrT), número de frutos carpelóides (NFrC), número de frutos pentândricos (NFrP) e número de frutos comerciais (NFrCom.). Em razão da limitação prática em distinguir as flores carpelóides das pentândricas pelo fenótipo externo, estas foram agrupadas em flores deformadas. Estas avaliações fenotípicas foram feitas para serem comparadas com os dados da genotipagem molecular e auxiliar na tomada de decisão quando da escolha da planta a ser retrocruzada. Em ambas as gerações, lâminas foliares jovens foram coletadas em plantas hermafroditas, logo após o florescimento. Posteriormente, as amostras foliares foram trazidas para o Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (LMGV/CCTA/UENF), em Campos dos Goytacazes – RJ, onde foram maceradas em nitrogênio líquido, acondicionadas em tubos “Falcon” fechados com capacidade de 15 mL e armazenadas em ultrafreezer (-86 °C).

#### **3.4.4.3. Esquema resumido dos experimentos**

A seguir será apresentado um esquema que resume as principais etapas da pesquisa, incluindo os cruzamentos, genotipagem molecular e fenotipagem.

Vale ressaltar que a obtenção da geração F<sub>1</sub>, por meio do cruzamento entre o genótipo dióico ‘Cariflora’ (recorrente) e ‘SS 783’ (doador) foi realizada por Marin (2001). Esta etapa da pesquisa foi desenvolvida na Fazenda Experimental da Korin Agrícola, unidade descentralizada da Fundação Mokiti Okada, localizada no município de Casimiro de Abreu, RJ. A segunda fase do trabalho foi desenvolvida no Banco de Germoplasma de Mamoeiro da UENF, localizado na

Empresa CALIMAN AGRÍCOLA S.A, em Linhares-ES. Para tanto, procedeu-se a transferência do pólen de plantas  $F_1$  ('Cariflora' x 'SS 783') para o progenitor recorrente, 'Cariflora', em junho de 2002.

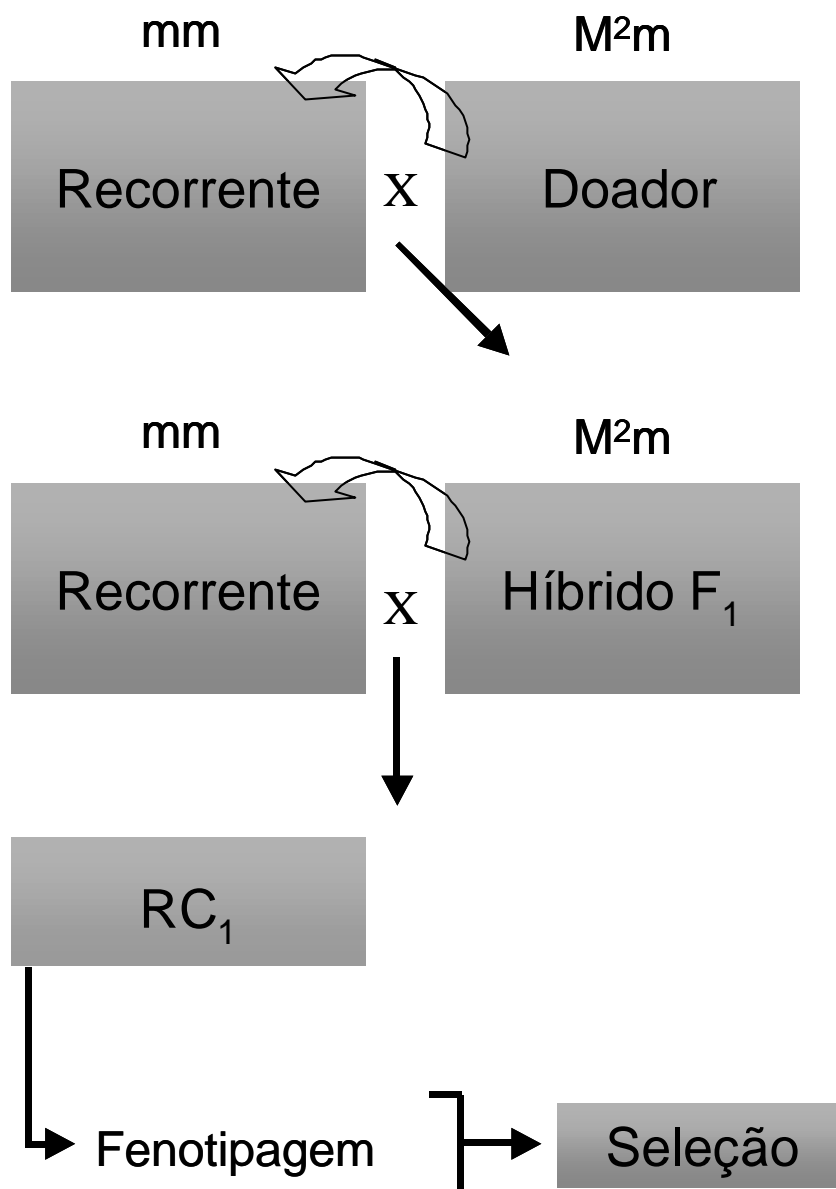


Figura 1. Esquema ilustrativo das principais etapas desenvolvidas até a obtenção e avaliações fenotípica da geração  $RC_1$ , seguido da seleção da planta para realização do  $RC_2$ .

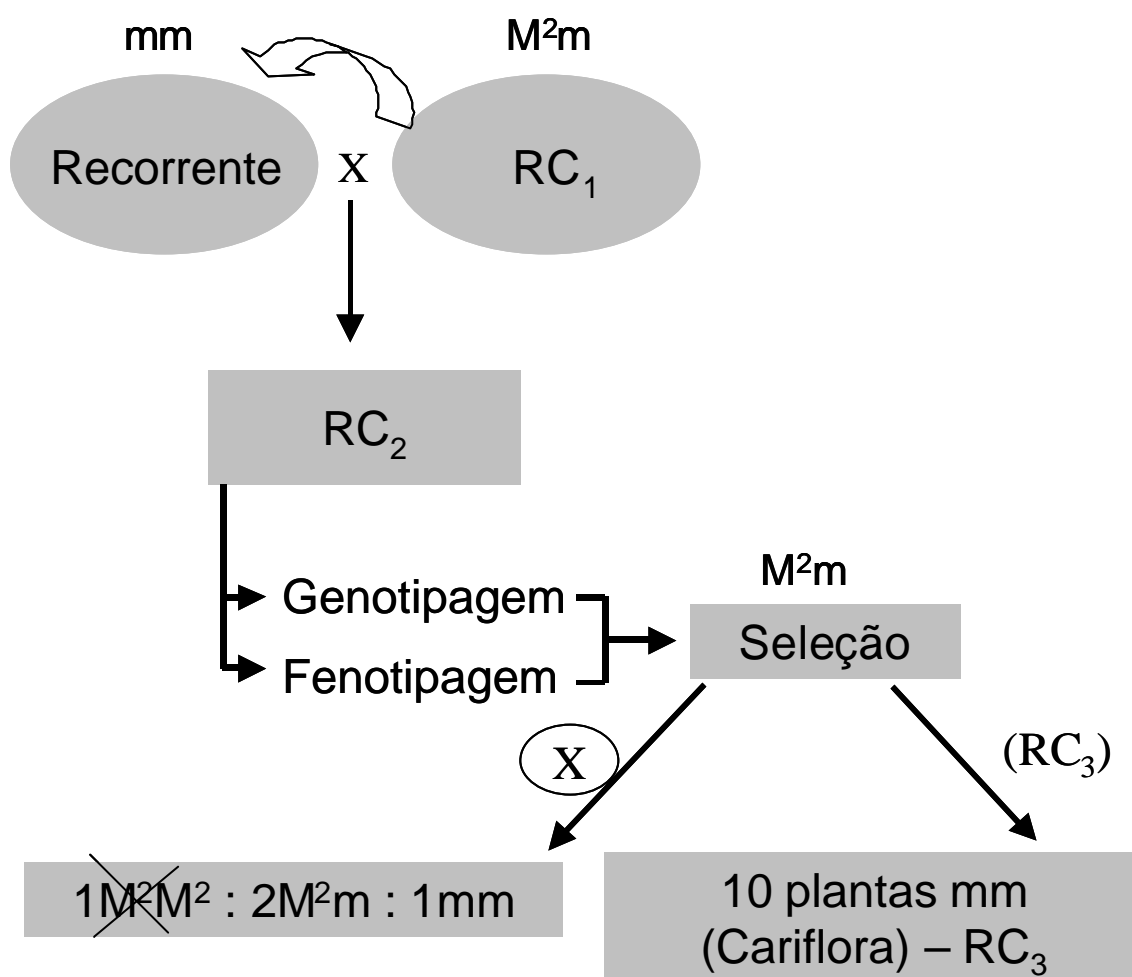


Figura 2. Esquema ilustrativo da obtenção e avaliações fenotípica e genotípica da geração RC<sub>2</sub>, seguido da autofecundação e recombinação das plantas selecionadas.

#### 3.4.4.4. Extração do DNA genômico

Das amostras foliares maceradas, das gerações RC<sub>1</sub>, RC<sub>2</sub> e dos dois bulks, aproximadamente 200 mg de tecido foi transferido para tubos eppendorf com capacidade para 1,5 mL e acondicionados em nitrogênio líquido. O DNA genômico foi extraído pelo método CTAB (Doyle e Doyle, 1990), com algumas modificações, descrito a seguir. Adicionaram-se aos tubos 800 µL do tampão de extração pré-aquecido contendo 1% CTAB; 1,4 M NaCl; 20 mM EDTA; 100 mM Tris-HCl (pH 8,0); 1% PVP e 0,1% β-mercaptoetanol, incubando-se a 65°C por 30 a 40 minutos e agitando-se suavemente os tubos a cada 10 minutos. Posteriormente, centrifugaram-se as amostras a 13400 g por cinco minutos,

transferiram-se os sobrenadantes para novos tubos, adicionaram-se 700-800  $\mu\text{L}$  de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1) e inverteram-se os tubos continuamente até formar emulsão. Esse passo foi repetido mais uma vez, e após nova centrifugação, os sobrenadantes foram transferidos para novos tubos e então adicionaram-se 2/3 do volume de isopropanol gelado, com suave inversão e colocados por uma noite em geladeira. No dia seguinte, procedeu-se uma nova centrifugação a 13400 g por 10 minutos, obtendo-se os péletes (precipitados), que foram lavados duas vezes com 200  $\mu\text{L}$  de etanol 70% e uma vez também com 200  $\mu\text{L}$  de etanol 95%, secos em temperatura, ressuspensos em 200  $\mu\text{L}$  de solução Tris-EDTA (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8,0) e incubados com RNase numa concentração final de 40  $\mu\text{g mL}^{-1}$  a 37°C por 30 minutos. Após a adição de 20  $\mu\text{L}$  de NaCl 5M e 140  $\mu\text{L}$  de isopropanol gelado em cada tubo, a mistura foi incubada por uma noite a 4°C. Em seguida, centrifugaram-se as suspensões a 13400 g por 10 minutos, secaram-se e, finalmente, ressuspenderam-se os péletes em 200  $\mu\text{L}$  de solução de TE.

Na geração RC<sub>1</sub>, as concentrações de DNA nas amostras foram estimadas utilizando-se métodos espectrofotométricos (Spekol, Zeiss, Germany) e então, padronizadas na concentração de 20  $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$  para uso nas análises com marcadores AFLP. Na geração RC<sub>2</sub>, as concentrações de DNA nas amostras foram estimadas utilizando-se como padrão DNA de mamoeiro com concentração previamente conhecida, em gel de agarose a 0,8% contendo brometo de etídeo. Em seguida, as amostras foram padronizadas na concentração de 10  $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$  para análises com os marcadores RAPD.

#### **3.4.4.5. Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (RAPD)**

Embora tenha sido realizado os ensaios com os marcadores AFLPs na genotipagem molecular da geração RC<sub>1</sub>, os resultados não foram consistentes o bastante para serem utilizados na seleção da planta para realizar o segundo retrocruzamento. O software 'Genotyper DNA Fragment Analysis', utilizado para efetuar as análises dos polimorfismos, pode induzir a interpretações erradas em trabalhos desta natureza por revelar muitos falsos polimorfismos. O ideal é que se faça uma interpretação visual dos géis, assim como é feito com os marcadores RAPD. Contudo, essa etapa não foi realizada e, portanto, os resultados obtidos não refletiram o esperado naquela população. Dessa forma, dado à necessidade

de se realizar o RC<sub>2</sub> dentro do cronograma proposto no projeto, optou-se por efetua-lo somente com base nas observações fenotípicas, buscando a planta mais parecida fenotipicamente com o 'Cariflora' (planta 79).

A partir deste tópico, serão considerados apenas os ensaios com os marcadores RAPD, na geração RC<sub>2</sub>.

#### **3.4.4.5.1 Reação da polimerase em cadeia (PCR)**

As reações de amplificação para RAPD foram realizadas de acordo com Willians et al. (1990), modificado num volume final de 20 µL, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8.3); KCl 50 mM; MgCl<sub>2</sub> 2,4 mM; 100 µM de cada um dos deoxirribunocliotídeos (dATP, dCTP, dGTP e dTTP); 0,3 µM de cada iniciador; 20 ng de DNA genômico e uma unidade da enzima *Taq* DNA polimerase. As amplificações foram feitas em um termociclador (Eppendorf Mastercycler Gradient) programado para 95°C por 1 minuto, seguido de 50 ciclos de 1 minuto a 94°C, 1 minuto a 36°C e 2 minutos a 72°C e um passo final para extensão de 7 minutos a 72°C. Após as amplificações, a temperatura das amostras foi reduzida para 4°C. Os produtos de amplificação (bandas) foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1,0% e visualizados após coloração por brometo de etídio, em um sistema de fotodocumentação EAGLE EYE II.

#### **3.4.4.6. Análise dos dados moleculares**

Os dados dos marcadores RAPD de cada genótipo foram obtidos pela presença (1) ou ausência (0) de bandas. O complemento aritmético do Índice de Jaccard (Alfenas et al., 1991), que corresponde aos valores de dissimilaridade, foi calculado como  $1 - I_{AB}$ , que é igual a  $1 - a/(a+b+c)$ , onde  $a$  corresponde ao número de bandas presentes em ambos os genótipos, simultaneamente,  $b$  corresponde ao número de bandas presentes apenas no genótipo A e  $c$  corresponde ao número de bandas presentes apenas no genótipo B.

A matriz de distância genética foi usada para realizar a análise de agrupamento via método hierárquico do Vizinho mais distante. As análises estatísticas foram realizadas por meio dos programas GENES (Cruz, 2001) e STATISTICA versão 95 (StatSoft Inc, Tulsa, Oklahoma, EUA).

### 3.4.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Embora tenham sido realizadas avaliações fenotípicas nas gerações RC<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>, seus resultados não serão apresentados neste capítulo dado ao grande número de características e ao elevado número de genótipos avaliados, 94 plantas RC<sub>1</sub> e 87 plantas RC<sub>2</sub>.

Os iniciadores RAPD usados nas reações em cadeia da polimerase (PCR), o número de bandas monomórficas e polimórficas, estão apresentados na Tabela 1. Trinta e três iniciadores foram analisados em 89 genótipos, sendo, 87 indivíduos da geração RC<sub>2</sub> e os dois genitores, e um total de 98 produtos (bandas) foi obtido. Das 98 bandas obtidas, 54 foram polimórficas e 45 foram monomórficas, ou seja, em média, cada iniciador gerou 1,64 bandas polimórficas e 1,36 bandas monomórficas. O número total de bandas por iniciador variou de 2 a 6 e 55,10% das bandas revelaram polimorfismos.

Cattaneo (2001), analisando 22 genótipos de mamoeiro com 34 iniciadores RAPD, encontrou 155 bandas totais, das quais, 75 foram polimórficas e 80 foram monomórficas, ou seja, em média, cada iniciador gerou 2,20 bandas polimórficas e 2,35 bandas monomórficas. No seu trabalho, o número de marcas por iniciador variou de 3 a 8 e, no geral, 48,38 % das bandas foram polimórficas.

De acordo com esses resultados, observa-se que, mesmo em se tratando da mesma espécie, variações ocorrem na avaliação dos parâmetros das marcas RAPD. Tais variações são comuns, uma vez que este marcador tem sua repetibilidade influenciada por pequenas variações nas condições de reações (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

A Figura 3 ilustra um dos iniciadores utilizados, o OPD 20, indicando a presença de duas marcas polimórficas entre os genitores e na população RC<sub>2</sub>, e uma marca monomórfica.

Tabela 1. Iniciadores RAPD utilizados, número de marcas monomórficas e polimórficas geradas na geração RC<sub>2</sub> de mamoeiro.

Iniciador	Marcas		
	Monomórficas	Polimórficas	Totais
OPA 14	02	04	06
OPB 05	02	01	03
OPC 15	01	01	02
OPD 05	02	02	04
OPD 18	02	01	03
OPD 20	01	02	03
OPF 12	02	01	03
OPG 15	02	01	03
OPK 10	01	02	03
OPM 10	02	01	03
OPM 15	01	03	04
OPM 16	02	02	04
OPM 20	01	01	02
OPN 06	01	02	03
OPO 19	01	02	03
OPP 03	01	01	02
OPR 04	01	02	03
OPR 08	02	01	03
OPT 01	01	02	03
OPV 14	01	01	02
OPZ 10	01	01	02
OPAA 15	02	01	03
OPAC 11	02	01	03
OPAC 19	01	01	02
OPAF 15	01	03	04
OPAM 09	01	02	03
OPAN 10	02	02	04
OPAP 01	02	01	03
OPAP 07	01	02	03
OPAS 12	01	02	03
OPAU 08	01	01	02
OPAV 06	01	01	02
OPAV 19	0	03	02
Total	45	54	98



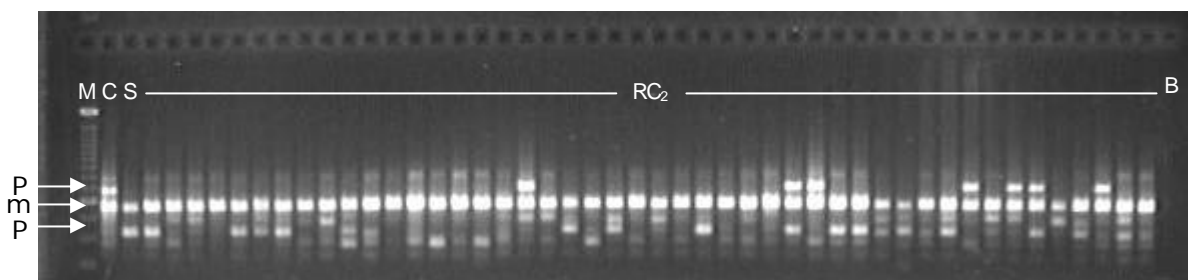


Figura 3. Marcador fago lambda (M) digerido com Eco RI e Hind III e perfis de bandas RAPD geradas pelo iniciador OPD 20, indicando o polimorfismo (p) e o monomorfismo (m) entre os genitores 'Cariflora' (C) (recorrente) e 'SS 783' (S) (doador), e na geração  $RC_2$ . O B representa o branco, ou seja, ausência de DNA.

Os coeficientes de dissimilaridade genética dos 87 genótipos  $RC_2$  e dos genitores 'SS 783' e 'Cariflora' foram obtidos por meio do complemento aritmético do índice de Jaccard, compondo uma matriz de 89 x 89. Analisando-se a matriz de dissimilaridade genética, observou-se que estes valores, na geração  $RC_2$ , variaram de 0,0145 a 0,3461, representando uma amplitude de 0,3316, e entre os genitores foi de 0,4706. O coeficiente de dissimilaridade genética médio da geração  $RC_2$  foi de 0,1802 e o desvio padrão da média foi igual a 0,0426, ou seja, com base no número de marcas obtidas, em média, os indivíduos são muito próximos geneticamente.

Ao contrário de trabalhos de retrocruzamento entre materiais genéticos muito divergentes, de uma mesma espécie ou de espécies diferentes, em que se deseja o mínimo possível de regiões genômicas do genitor doador, o presente trabalho dispensa grandes preocupações nesse sentido. Portanto, acredita-se ter realizado a conversão sexual do genótipo 'Cariflora' em apenas três gerações de retrocruzamento, uma vez que, na segunda geração, foram aplicados os marcadores RAPD para auxiliar na identificação das plantas candidatas a serem recombinadas com plantas femininas 'Cariflora', propiciando que se recupere, com o terceiro retrocruzamento, potencialmente, mais de 95% do seu genoma.

Caso não se tenha recuperado 95% do genoma 'Cariflora', nenhum problema ocorrerá do ponto de vista do melhoramento genético derivado deste material. Portanto, em nada justificaria a aplicação dos marcadores de DNA e fenotipagem numa geração  $RC_3$ , o que resultaria em aumento de custos da pesquisa com pouca expectativa de ganhos significativos.

Na Figura 4, está apresentado o dendrograma da distância genética dos 87 indivíduos da geração RC<sub>2</sub> e dos genitores recorrente (1) e doador (2) com base em marcadores RAPD, obtido pelo complemento aritmético do índice de Jaccard, utilizando-se o método hierárquico do vizinho mais distante.

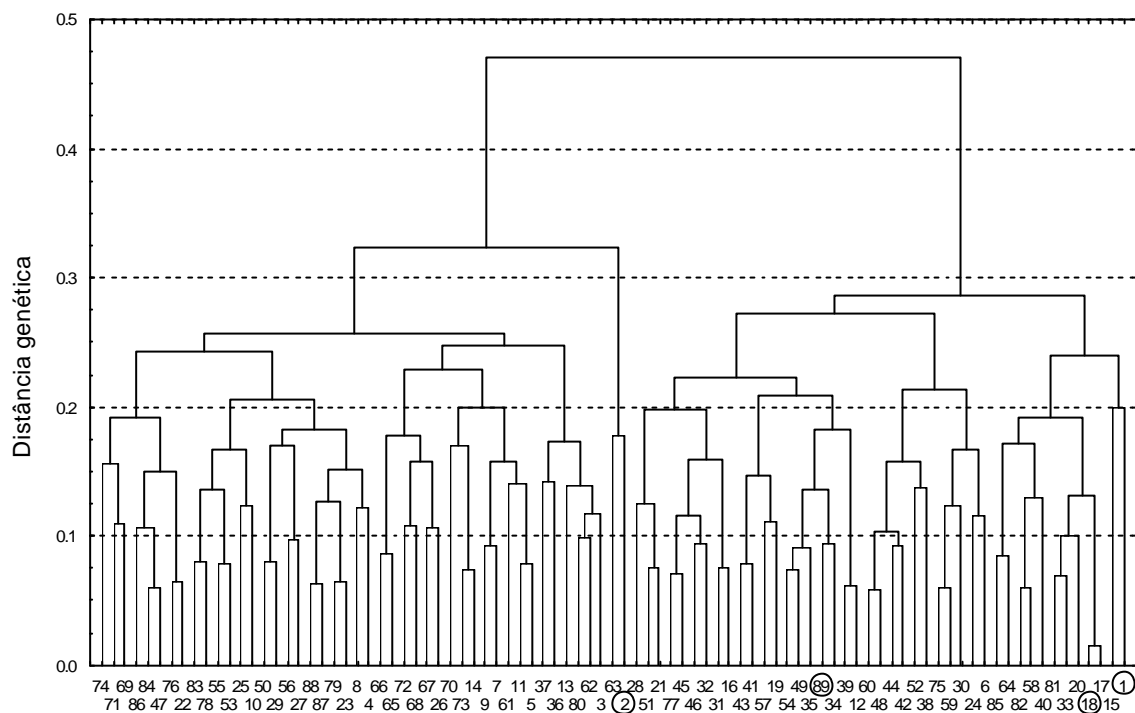


Figura 4. Dendrograma da dissimilaridade genética dos 87 indivíduos RC<sub>2</sub> e dos genitores recorrente (1) e doador (2), com base na matriz de distância genética gerada por meio dos marcadores RAPD, obtido pelo método do vizinho mais distante. As plantas 18 e 89 foram selecionadas para recombinar com 10 plantas femininas do genótipo dióico 'Cariflora'.

Na Figura 4, observa-se a formação de dois grandes grupos, nos quais, estão inseridos os genitores, 'Cariflora' (1) no grande grupo da direita e 'SS 783' (2) no grande grupo da esquerda. A grande maioria dos genótipos estão se agrupando abaixo da linha de corte em 0,200, porém, os dois grandes grupos estão se ligando a aproximadamente 0,475 na escala de distância genética, dando consistência aos dois grandes grupos.

O grande grupo que contempla o genitor recorrente (1) está composto por 48,3% dos genótipos e no segundo grande grupo, no qual está contemplado o

genitor doador (2), estão agrupados 51,7% dos genótipos. Numa geração  $RC_2$ , proveniente de duas linhagens contrastantes, o esperado seria que a maioria dos indivíduos se agrupasse com o genitor recorrente. No presente trabalho, essa tendência não foi observada, porém, duas considerações importantes devem ser analisadas. A primeira delas, é a de que a seleção da planta, na primeira geração de retrocruzamento, para a realização do  $RC_2$  foi feita com base somente nas observações fenotípicas. A segunda consideração é a de que antes de se aplicar os marcadores de DNA na genotipagem molecular, a fim de se identificar as plantas com maior proporção genômica do genitor recorrente, foi realizada uma seleção fenotípica preservando a característica do genitor doador, a qual se deseja transferir para o recorrente. Dessa forma, a recuperação do genoma recorrente em ciclos de retrocruzamento tende a desviar a favor do genitor doador, uma vez que a característica a ser selecionada veio do doador e esses desvios tendem a ser mais pronunciados em características de herança quantitativa. No presente trabalho, foi realizada a seleção para o hermafroditismo em cada uma das gerações de retrocruzamento, que em média segregou na proporção de 1:1, ou seja, uma planta feminina para uma planta hermafrodita. Além da seleção para o hermafroditismo, realizou-se também a seleção para outros atributos fenotípicos que, provavelmente, privilegiaram a participação maior do genoma doador.

A matriz de dissimilaridade genética, também nos possibilitou estimar a distância média entre o genitor recorrente e as plantas  $RC_2$ , selecionadas para o hermafroditismo, onde se verificou que a média do genoma recorrente nesta geração foi de 75,7%, quando o esperado era 87,5%.

Guimarães et al. (2006) relatam que em um trabalho realizado com soja, visando incrementar o conteúdo de proteína, foram selecionadas 16 plantas  $RC_1F_2$  superiores para esta característica, em que a média do genoma recorrente entre as plantas selecionadas foi de 53,5%, quando o esperado era 75%. Essa diferença tão pronunciada se deveu ao fato de a característica selecionada, advinda do genitor doador, ser de herança quantitativa, envolvendo vários genes distribuídos pelo genoma. Por outro lado, Mesquita et al. (2005), obtiveram em dois ciclos de retrocruzamento assistido, utilizando 68 marcadores SSR, plantas de milho selecionadas para baixa inserção de espiga (característica do genitor

doador) com 98,2% do genoma recorrente. Esse seria o resultado esperado no quinto ciclo de retrocruzamento, em um programa convencional.

No presente trabalho, observa-se na Figura 4 que a planta mais próxima ao genitor recorrente é aquela representada pelo número 15, porém, esta havia sido descartada por razões fitossanitárias. A segunda e a terceira na hierarquia seriam as plantas representadas pelos números 17 e 18, contudo, dentro desse grupo, as plantas de melhor performance fenotípica foram as de número 18 e 89, com destaque para essa última. Dessa forma, optou-se por utilizar as plantas 18 e 89 na recombinação com 10 plantas femininas do genótipo 'Cariflora' (RC<sub>3</sub>), e com isso, obter um 'Cariflora' segregando para o sexo na proporção de 1:1 (femininas e hermafrodita). A razão de selecionar a planta 89 foi basicamente priorizar a transferência do alelo para o hermafroditismo, porém, preservando o máximo de características fenotípicas desejáveis em um programa de melhoramento genético do mamoeiro. Dentre estas características, pode-se destacar o vigor, a precocidade, a baixa inserção do primeiro fruto, a reduzida incidência de deformações nas flores (carpeloidia + pentandria), a baixa incidência de esterilidade feminina ou reversão sexual e a capacidade produtiva, dentre outras. De acordo com Viera et al. (2005), o emprego dos marcadores moleculares no estudo de dissimilaridade genética, acompanhado de informações fenotípicas, é importante para a seleção de genótipos e o mapeamento genético.

A matriz de divergência genética, com base nas 54 marcas RAPD, indica uma semelhança entre o genitor recorrente e as plantas representadas pelos números 15, 18 e 89, de 84 %, 81 % e 76 %, respectivamente. A decisão final sobre qual das gerações recombinadas ('Cariflora' x 18 ou 'Cariflora' x 89) será utilizada como referencial para os trabalhos de melhoramento futuros dependerá do desempenho fenotípico de ambas.

Se nas próximas gerações recombinadas (RC<sub>3</sub>) fosse aplicado os marcadores de DNA novamente, seria esperado encontrar pouca variação entre os indivíduos e uma recuperação de aproximadamente 95% do genoma recorrente. Portanto, não há razão para discordar que na próxima geração de retrocruzamento, proveniente da recombinação das plantas 18 e 89 com 10 plantas femininas do 'Cariflora', haja uma recuperação de aproximadamente 95% do genoma recorrente. Contudo, proporções menores que 95% não resultaria em

prejuízos ao programa de melhoramento, uma vez que o genitor doador é um material genético cultivado.

### 3.4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfenas, A.C., Peters, I., Brune, W., Passador, G.C. (1991) Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Allard, R.W. (1971) Princípios do melhoramento genético das plantas. São Paulo. Edgard Blucher, 381p.
- Arkle Junior, T.D., Nakasone, H.Y. (1984) Floral differentiation in the hermaphroditic papaya. *Hort Science* 19:832-834.
- Cattaneo, L.F. (2001) Avaliação da divergência genética e análise de gerações em mamoeiro (*Carica papaya* L.). Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 94p.
- Conover, R.A., Litz, R.E., Malo, S.E. (1986) Cariflora, a papaya for South Florida with tolerance to papaya ringspot virus. Florida: Agricultural Experiment Station, University of Florida, (Circular, 329), 3p.
- Cruz, C.D. (2001) Programa Genes (Versão Windows): aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 648p.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L. (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12:13-15.
- Ferreira, M. E. e Grattapaglia, D. (1998) Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. Embrapa – Cenargen, Brasília-DF. 220p.
- Guimarães, C.T., Schuster, I., Magalhães, J.V., Souza Júnior, C.L. (2006) Marcadores moleculares no melhoramento de plantas. In: Borém, A. e Caixeta, E.T. Marcadores moleculares. Viçosa: UFV, p.107-144.

- Hofmeyr, J.D.J. (1938) Genetical studies of *Carica papaya* L. African Dept. Agric. For Sci., Bull. 187:1-46.
- Marin, S.L.D. (2001) Melhoramento genético do mamoeiro (*Carica papaya* L.): habilidade combinatória de genótipos dos grupos 'Solo' e 'Formosa'. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 117p.
- Mesquita, A.G.G., Guimarães, C.T., Parentoni, S.N., Paiva, E. (2005) Recuperação do genitor recorrente em milho utilizando retrocruzamento assistido por marcadores microssatélites. In: Borém, A. e Caixeta, E.T. Marcadores moleculares. Viçosa: UFV, p.107-144.
- Storey, W.B. (1938) The primary flower types of papaya and the fruit types that develop from them. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 35: 83-85.
- Storey, W.B. (1941) The botany and sex relationships of the papaya. In: Papaya production in the Hawaiian Islands. Hawaii Agricultural Experiment Station, Bulletin 87:5-22.
- Storey, W.B. (1953) Genetics of the papaya. J. Hered., Washington 44:70-78.
- Vieira, E.A., Zimmer, P.D., Oliveira, A.C., Carvalho, F.I.F., Malone, G., Benin, G. (2005) Emprego de modelos gráficos na seleção de genitores de milho para hibridização e mapeamento genético. Ciência Rural, 35:986-994.
- Williams, J.G., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalsky, L.A., Tingey, S.V. (1990) DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18:6531-6535.

#### 4. RESUMO E CONCLUSÕES

De modo geral, conforme o tipo de fruto, as cultivares de mamoeiro mais plantadas no Brasil são classificadas em dois grupos: Solo (ex.: 'Sunrise Solo', 'Improved Sunrise Solo Line 72/12' e 'Golden') e Formosa ('Tainung nº 1'). Além do problema inerente a esta estreita base genética, o que implica vulnerabilidade às doenças, pragas e variações edafoclimáticas, o elevado preço e a dificuldade de obtenção de sementes do híbrido F1 comercial do grupo Formosa constituem fatores limitantes para a expansão da cultura.

Evidencia-se, portanto, a necessidade de fortalecer os programas de melhoramento genético, que com objetivos a curto, médio e longo prazo, contribuam na ampliação da base genética atual, gere variedades com tolerância ou resistência as principais doenças como o vírus da mancha anelar e meleira, além de apresentar características agrônômicas desejáveis, visando satisfazer as exigências do mercado interno e externo. Associado aos procedimentos clássicos de melhoramento, a técnica de marcadores de DNA trouxe uma perspectiva inteiramente nova para a cultura do mamoeiro por meio do melhoramento assistido, gerando a expectativa de redução do tempo necessário para o lançamento de novos materiais genéticos superiores.

Os resultados encontrados nesta pesquisa possibilitam indicar as seguintes conclusões:

1. Os marcadores RAPD foram eficientes no monitoramento da variabilidade genética das gerações de autofecundação ( $C_1$ ,  $C_2$  e  $C_3$ ), no genitor 'Formosa' do híbrido 'UENF/CALIMAN 01', indicando por meio do teste de Qui-quadrado (5% de significância) que a redução do número de marcas polimórficas do  $C_1$



(60) para o  $C_2$  (23) e do  $C_2$  para o  $C_3$  (17), se ajusta ao esperado, que seria de 60 ( $C_1$ ), 30 ( $C_2$ ) e 15 ( $C_3$ ), ou seja, de 50% a cada geração. Os resultados indicam que, o avanço de mais uma geração de autofecundação para a obtenção e “genotipagem” molecular do ciclo  $C_4$  não resultaria em ganhos significativos na redução da distância genética e implicaria em atraso na liberação das sementes híbridas.

2. Os marcadores RAPD foram eficientes na discriminação genética dos indivíduos da segunda geração de retrocruzamento ( $RC_2$ ), geneticamente mais próximos do genitor recorrente (Cariflora). A matriz de divergência genética, com base nas 54 marcas RAPD, indica uma semelhança entre o genitor recorrente (Cariflora) e as plantas representadas pelos números 15, 18 e 89, de 84%, 81% e 76%, respectivamente.
3. Se nas gerações  $RC_3$ , derivadas do terceiro retrocruzamento, fosse aplicado os marcadores de DNA, seria esperado encontrar pouca variação entre os indivíduos e uma recuperação de aproximadamente 95% do genoma recorrente (Cariflora). Contudo, proporções menores que 95% não resultaria em prejuízos ao programa de melhoramento, uma vez que o genitor doador (SS 783) é um material genético cultivado.
4. A matriz de dissimilaridade genética, obtida pelos marcadores RAPD, na geração  $RC_2$ , possibilitou estimar a distância média entre o genitor recorrente e as plantas  $RC_2$ , selecionadas para o hermafroditismo, onde se verificou que a média do genoma recorrente nesta geração foi de 75,7%, quando o esperado era 87,5%. Contudo, há de se considerar que, além da seleção para o hermafroditismo, realizou-se também a seleção para outros atributos fenotípicos que, provavelmente, privilegiaram a participação maior do genoma doador.
5. As avaliações fenotípicas da população  $RC_1$ , das gerações segregantes derivadas da população  $RC_1$  e da população  $RC_2$  indicam, por meio das análises estatísticas, que os materiais genéticos avaliados dispõem de uma ampla variabilidade para as características agronômicas, com excelentes expectativas de ganhos genéticos por meio da seleção.
6. Os resultados das avaliações florais e de frutificação, na geração  $RC_1$ , são indicativos da presença de variabilidade genética para as variações na expressão do sexo, possibilitando a identificação de plantas menos responsivas

às variações de temperatura entre as duas épocas de avaliação, ou seja, mais adaptadas, facilitando a tomada de decisão na seleção das plantas superiores para o avanço de gerações.

7. Na população RC<sub>1</sub>, a ocorrência de maiores deformações florais no inverno pode ser atribuída à menor temperatura média do ar que foi de 21,8°C e, sobretudo, às maiores amplitudes térmicas que em média foi 2,1°C a mais do que no verão e, a ocorrência de maior esterilidade, no verão, deve ser atribuída à maior temperatura média do ar que foi de 25,8°C, 4°C a mais do que no inverno.
8. O caráter atípico das chuvas durante os meses de verão pode ter potencializado os efeitos estressantes das altas temperaturas sobre a expressão sexual da população RC<sub>1</sub> e do genótipo 'Golden'.
9. Nas gerações segregantes, derivadas da população RC<sub>1</sub> e do segundo retrocruzamento (população RC<sub>2</sub>), os resultados das estimativas dos parâmetros genéticos e os elevados ganhos genéticos obtidos, pelas diferentes estratégias de seleção utilizadas, são indicativos de que os materiais genéticos segregantes dispõem de variabilidade genética para as características avaliadas e, portanto, são promissores para o avanço de gerações com uma expectativa de obtenção de linhagens superiores em curto e médio prazo. Portanto, recomendou-se o avanço de gerações com 30 plantas, selecionadas em um total de 345 plantas, contemplando todos os tratamentos segregantes.
10. Considerando que os tratamentos segregantes, mencionados no item 9, são provenientes de um cruzamento inicial entre a variedade 'Sunrise Solo 783' (SS 783) e o genótipo 'Cariflora', pode se deduzir que, provavelmente, a maior expressão das deformações florais, carpeloidia e pentandria dos frutos, verificadas nos tratamentos 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>, são herdadas do genitor 'Cariflora' uma vez que, na condição dióica essas características jamais se expressariam nesse genótipo.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfenas, A.C., Peters, I., Brune, W., Passador, G.C. (1991) Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Allard, R.W. (1971) Princípios do melhoramento genético das plantas. São Paulo. Edgard Blucher, 381p.
- Aradhya, M.K., Manshardt, R.M., Zee, F., Morden, C.W. (1999) A phylogenetic analysis of the genus *Carica* L. (Caricaceae) based on fragment restriction length variation in a cpDNA intergenic spacer region. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 46:579-586.
- Araki, T. (2001) Transition from vegetative to reproductive phase. *Current opinion in Plant Biology* 4:63-68.
- Arkle Junior, T.D., Nakasone, H.Y. (1984) Floral differentiation in the hermaphroditic papaya. *Hort Science* 19:832-834.
- Awada, M. (1953) Effects of moisture on yield and Sex expression of the papaya plants (*Carica papaya* L.). University of Hawaii. Hawaii Agricultural Experiment Station Progress Notes, n.97.
- Awada, M. (1958) Relationships of minimum temperature and growth rate with sex expression of papaya plants (*Carica papaya* L.). Hawaii Agricultural Experiment Station, Technical Bulletin 38: 1-16.
- Awada, M., Ikeda, W. S. (1957) Effects of water and nitrogen application on composition, growth, sugars in fruits, and Sex expression of the papaya plants (*Carica papaya* L.). University of Hawaii. Hawaii Agricultural Experiment Station, Technical Bulletin, n.38, 16p.
- Badillo, V. M. (1971) Monografía de la familia Caricaceae. Asociacion de Profesores, Universidad Central de Venezuela, Maracay, Venezuela.

- Badillo, V. M. (2002) *Carica L. vs. Vasconcella St. Hil. (Caricaceae) con la Rehabilitación de este ultimo. Ernstia 10: 70-72.*
- Boteon, M. (2005) Desafios da fruticultura e o mercado de mamão. In: Martins DS *Papaya Brasil: mercado e inovações tecnológicas para o mamão. Incaper, Vitória-ES, p.15-21.*
- Bracale, M., Caporali, E., Galli, M. G., Longo, C., Marzianilongo, G., Rossi, G., Spada, A., Soave, C., Falavigna, A., Raffaldi, F. F., Maestri, E., Restivo, F. M., Tassi, F. (1991) Sex determination and differentiation in *Asparagus officinalis* L. *Plant Science 80: 67–77.*
- Cattaneo, L.F. (2001) Avaliação da divergência genética e análise de gerações em mamoeiro (*Carica papaya* L.). Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 94p.
- Cattaneo, L.F., Daher, R.F., Marin, S.L.D., Pereira, M.G. (1999) Avaliação de divergência genética em mamoeiro (*Carica papaya* L.) utilizando marcadores RAPD. Anais do Congresso Nacional de Genética, 45, Gramado: SBG, p.524.
- 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.*
- Clement, C.R., Sousa, N.R., Rodrigues, D.P., Astolfi-Filho, S., Moreno, Y.N., Pascual V.T., Rodríguez, F.J.G. (2002) Use of AFLPs to distinguish landraces of Pejibaye (*Bactris gasipaes*) in Brazilian Amazonia. *Scientia Agricola, 59:749-753.*
- Conover, R.A., Litz, R.E., Malo, S.E. (1986) Cariflora, a papaya for South Florida with tolerance to papaya ringspot virus. Florida: Agricultural Experiment Station, University of Florida, (Circular, 329), 3p.
- Conte, R. (2004) Estrutura genética de populações de *Euterpe edulis* submetidas à ação antrópica utilizando marcadores alozímicos e microsatélites. Tese de Doutorado, Escola superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 124p.
- Couto, F.A.D'araújo, Nacif, S.R. (1999) Hibridação em mamão. In: Borém, A. Hibridação artificial de plantas. Viçosa: UFV, p.307-329.
- Creste, S., Tulmann Neto, A., Vencovsky, R., Silva, S.O., Figueira, A. (2004) Genetic diversity of *musa* diploid and triploid accessions from the Brazilian banana breeding program estimated by microsatellite markers. *Genetic resources and crop evolution, 51:723-753.*
- Cruz, C.D. (2001) Programa Genes (Versão Windows): aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 648p.

- Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S. (2003) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, v.2, 585p.
- Cruz, C.D., Regazzi A.J. (1997) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Editora UFV, Viçosa, 390p.
- Dallaporta, S.L., Calderon-Urrea, A. (1993) Sex determination in flowering plants. *The Plant Cell* 5:1241-1251.
- Damasceno Junior, P.C. (2004) Estudo reprodutivo em mamoeiro (*Carica papaya* L.). Dissertação de mestrado, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 74p.
- Dantas, J.L.L. (2000) Introdução. *In*: Trindade, A.V. Mamão. Produção: aspectos técnicos. Brasília: EMBRAPA-CNPMT, p. 9.
- Dantas, J.L.L., Castro Neto, M.T. (2000) Aspectos botânicos e fisiológicos. *In*: Trindade, A.V. Mamão. Produção: aspectos técnicos. Brasília: EMBRAPA-CNPMT, p. 11-14.
- Dantas, J.L.L., Souza, J. da S., Pinto, R.M. de S., Lima, J.F. de (1999a) Variabilidade genética e melhoramento do mamoeiro. *In*: Queiroz, M.A. de, Geodert, C.O., Ramos, S.R.R. (Ed.). Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste Brasileiro (on line). Versão 1.0. Petrolina-PE: Embrapa Semi-Árido/Brasília-DF: Embrapa recursos genéticos e biotecnologia. Disponível em: World wide web <http://www.cpatsa.embrapa.br> ISBN 85-7405-001-6.
- Darlington, C.D., Amaral, E.J.K. (1945) Chromosome atlas of cultivated plants. George Allen and Unwin Ltd., London.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L. (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12:13-15.
- Durand, B., Durand, R. (1991) Sex determination and reproductive organ differentiation in *Mercurialis*. *Plant Science*, 80:49-65.
- Fehr, W. R. (1987) Principles of cultivar development: Theory and Technique. Iowa State University, v.1, 525p.
- Ferreira, M. E. e Grattapaglia, D. (1998) Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. Embrapa – Cenargen, Brasília-DF. 220p.
- Fonseca, T.C., Dornelas, M.C. (2002) Evolução do sexo em plantas. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento* 27:48-51.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations (1996) Report on the State of the World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. FAO, Rome, Italy.

- Frankel, R., Galun, E. (1977) Pollination mechanisms, Reproduction and Plant Breeding. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, 281p.
- Godshalk, E.B., Lee, M., Lanky, K.R. (1990) Relationship of restriction fragment length polymorphisms to single-cross hybrid performance of maize. *Theoretical and Applied Genetics*, 80:273-280.
- Guimarães, C.T., Schuster, I., Magalhães, J.V., Souza Júnior, C.L. (2006) Marcadores moleculares no melhoramento de plantas. In: Borém, A. e Caixeta, E.T. Marcadores moleculares. Viçosa: UFV, p.107-144.
- Harkness, R.W. (1967) Papaya growing in Florida. Florida: Fla. Agr. Ext. Serv.
- Hazel, L.N. (1943) The genetic basis for constructing selection indexes. *Genetics*, Bethesda, 33:476-490.
- Hinojosa, R. L., Montgomery, M. W. (1988) Industrialização do mamão. Aspectos bioquímicos e tecnológicos da produção de purê asséptico. In: RUGGIERO, C. (Ed.) Mamão, Jaboticabal, FCAV, p. 89-110.
- Hofmeyr, J.D.J. (1938) Genetical studies of *Carica papaya* L. *African Dept. Agric. For Sci., Bull.* 187:1-46.
- Hofmeyr, J.D.J. (1967) Some genetic breeding aspects of *Carica papaya* L. *Agron. Trop.* 17:345-351.
- Horovitz, S. (1954) Determinación del sexo en *Carica papaya* L. Estructura hipotética de los cromossomas sexuales. *Agronomica Tropical*, 17:323-343.
- Horovitz, S., Jimenez, H. (1967) Cruzamientos interespecíficos e intergenericos en Caricaceas y sus implicaciones fitotecnicas. *Agronomia Tropical* 17:353-359.
- Horovitz, S., Zerpa, D.M., Arnal, H. (1953) Frecuencias de equilibrio de las formas sexuales en poblaciones de *Carica papaya* L. *Agronomia Tropical* 3: 149-174.
- Hospital, F., Chevalet, C., Mulsant, P. (1992) Using marker in gene introgression breeding programs. *Genetics*, 132:1199-1210.
- Ishii, Y., Holtzmann, O.W. (1963) Papaya mosaic disease in Hawaii. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, 47:947-951.
- Joly, A.B. (1993) Família Caricaceae. In: Botânica - Introdução à taxonomia vegetal, 11 ed. São Paulo, Editora Nacional, 490p.
- Kato, T. (2004) Quantitative trait loci controlling the number of spikelets and components traits in rice: the main effects and interaction with years. *Breeding Science* 54: 125-132.
- Kumar, L.S. (1999) DNA markers in plant improvement: an overviw. *Biotechnology Advances* 17: 143-182.

- Lanza, L.L.B., Souza Junior, C.L., Ottoboni, L.M.M., Vieira, M.L.C., Souza, A.P. (1997) Genetic distance of inbred lines and prediction of maize single-cross performance using RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics* 94:1023-1030.
- Lanza, M.A., Guimarães, C.T., Schuster, I (2000) Aplicação de marcadores moleculares no melhoramento genético. *Informe Agropecuária*, Belo Horizonte, 21 (204): 97-108.
- Lionakis, S. M. (1985) Genetics and physiology of Sex determination in dioecious plants. *Fruits*, 40:739-743.
- Liu, Z., Moore, P.H., Ma, H., Ackerman, C.M., Ragiba, M., Yu, Q., Pearl, H.M., Kim, M.S., Charlton, J.W., Stiles, J.I., Zee, F.T., Paterson, A.H., Ming, R. (2004) A primitive Y chromosome in papaya marks incipient sex chromosome evolution. *Nature Publishing Group*, 427:348-352.
- Louis, J. P. (1989) Genes for the regulation of Sex differentiation and male fertility in *Mercurialis annual* L. *Journal of Heredity*, 80:104-111.
- Manica, I. (1982) *Fruticultura tropical: 3. Mamão*. São Paulo: Agronômica Ceres, 276p.
- Manica, I. (1996) Cultivares e melhoramento do mamoeiro. In: Mendes, L.G., Dantas, J.L.L., Morales, C.F.G. *Mamão no Brasil*. Cruz das Almas: EUFBA/EMBRAPA-CNPMF, p.93-120.
- Marin S.L.D., Yamanishi O.K., Martelleto L.A.P. e Ide, C.D. (2003) Híbridação de mamão. In: Martins DS *Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno*. Incaper, Vitória-ES, p.173-188.
- Marin, S.L.D. (2001) Melhoramento genético do mamoeiro (*Carica papaya* L.): habilidade combinatória de genótipos dos grupos 'Solo' e 'Formosa'. Tese (Doutorado em Produ o Vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 117p.
- Marin, S.L.D., Gomes, J.A., Salgado, J.S. (1986) *Recomenda es para a cultura do mamoeiro cv. Solo no Estado do Espírito Santo*. 2.ed. Belo Horizonte: EMCAPA, 62p. (Circular Técnica, 2).
- Martelleto, L.A.P. (1997) A cultura do mamoeiro: perspectivas, tecnologias e viabilidade. Niterói, PESAGRO – RIO (PESAGRO – RIO. Documentos, 37), 14p.
- Menezes, M.V.C.O., Santos, J.B., Menezes, M. (2004) Genetic diversity in Carioca and Pérola cultivars of common bean based on RAPD markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 4:178-182.
- Mesquita, A.G.G., Guimarães, C.T., Parentoni, S.N., Paiva, E. (2005) Recupera o do genitor recorrente em milho utilizando retrocruzamento

- assistido por marcadores microssatélites. In: Borém, A. e Caixeta, E.T. Marcadores moleculares. Viçosa: UFV, p.107-144.
- Milach, S.C.K. (1998a) Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. In: S.C.K. Milach (ed.). Marcadores moleculares em plantas. Porto Alegre, UFRGS, p. 17-28.
- Milach, S.C.K. (1998b) Uso de marcadores na caracterização de cultivares. In: A. Borém e outros (ed.). Biossegurança, proteção de cultivares, acesso aos recursos genéticos e propriedade industrial na agropecuária, Viçosa, p. 43-58.
- Morais, O.P. (1992) Análise multivariada da divergência genética dos progenitores, índices de seleção combinada numa população de arroz oriunda de intercruzamentos, usando macho esterilidade. Viçosa: UFV, 251p. Tese de Doutorado.
- Morais, O.P., Silva, J.C., Cruz, C.D., Regazzi, A.J., Neves, P.C.F. (1997) Estimação dos parâmetros genéticos da população de arroz irrigado CNA-IRAT 4/0/3. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 32:421-433.
- Nakasone, H.Y., Lamoureux, C. (1982) Transitional forms of hermaphroditic papaya flowers leading to complete maleness. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 107 (4):589-592.
- Nakasone, H.Y., Paull, R.E. (1998) Tropical fruits. Crop production Science in Horticulture. New York: Cab International, 445p.
- Nass, L.L. (2001) Utilização de recursos genéticos vegetais no melhoramento. In: Nass, L.L., Valois, A.C.C., Melo, I.S. de, Valadares-Inglis, M.C. (Ed.). Recursos genéticos e melhoramento – plantas. Rondonópolis, MT: Fundação MT, 2001. p. 29-55.
- Nehmi, I.M.D, Ferraz, J.V., Nehmi Filho, V.A., Silva, M.L.M. da (2002) Consultoria & Comércio 2002. In: AGRIANUAL 2003: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP, p.378-386.
- Oliveira, R.P. de, Farias, A.R.N., Santos Filho, H.P., Oliveira, J.R.P., Dantas, J.L.L., Santos, L.B. dos, Oliveira M. A., Souza Junior, M.T., Silva, M.J., Almeida, E.P. de, Nickel, O., Medina, V.M., Cordeiro, Z.J.M. (1994) Mamão para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 52p. (FRUPEX. Série Publicações Técnicas, 9).
- Parasnis, A.S., Ramakrishna, W., Chowdari, K.V., Gupta, V.S., Ranjekar, P.K. (1999) Microsatellite (GATA)<sub>n</sub> reveals sex-specific differences in papaya. *Theor Appl Genet* 99:1047-1052.
- Paterniani, M.E.A.G.Z. (2001) Use of heterosis in maize breeding: history, methods and perspectives – a review. *Crop breeding and Applied Biotechnology*, 1:159-178.



- Pereira, M.G., Lee, M. (1995) Identification of genomic regions affecting plant height in sorghum and maize. *Theor. Appl. Genet.* 90:380-388.
- Pereira, M.G., Marin, S.L.D., Viana, A.P., Ferregueti, G.A., Martelleto, L.A.P., Cattaeneo, L.F., Pereira, T.N.S. (2003) Melhoramento genético do mamoeiro (*Carica papaya* L.): desenvolvimento e recombinação de híbridos. Resumo expandido enviado para o 2º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. Porto Segura-BA.
- Pereira, M.G., Pereira, T.N.S. (2006) Marcadores moleculares no Pré-Melhoramento de plantas. In: Borém, A. e Caixeta, E.T. Marcadores moleculares. Viçosa: UFV, p.85-106.
- Pérez, E.G. (2004) Melhoramento do mamoeiro. Toda Fruta ([http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra\\_conteudo.asp?conteudo=6062](http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=6062)), acessado em 12/01/2006.
- Pimentel-Gomes, F. (2000) Curso de estatística experimental. 14.ed. Piracicaba: Nobel, 477p.
- Ragot, M., Sisco, P.H., Hoisington, D.A., Stuber, C.W. (1995) Molecula-marker-mediated characterization of favorable exotic alleles at quantitative trait loci in maize. *Crop Science*, 35:1306-1315.
- Rao, R.C. (1952) Advanced statistical methods in biometric research. Jonh Wiley and Sons, New York.
- Rodríguez, R.E.S, Rangel, P.H.N., Morais, O.P. (1998) Estimativas de parâmetros genéticos e de respostas à seleção na população de arroz irrigado CNA 1. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 33:685-691.
- Rolim, S.G., Couto, H.T.Z., Jesus, R.M. (1999) Mortalidade e recrutamento de árvores na Floresta Atlântica de Linhares (ES). *Scientia Forestalis* 55:49-69.
- Rumin, G.C.R. (2005) Análise da interação genótipo x ambiente assistida por marcadores moleculares em milho (*Zea mays* L.). Tese de Doutorado, Escola superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 212p.
- Samach, A., Coupland, G. (2000) Time measurement and the control of flowering in plants. *Bioessays* 22:38-47.
- Samach, A., Wigge, P.A. (2005) Ambiente temperature perception in plants. *Current opinion in Plant Biology* 8:483-486.
- Sampaio, H.S. de V., Luna, J.V.U., Sampaio, L.S. de V. (1983) Comportamento de linhas endógamas de mamão (*Carica papaya* L.) e seus híbridos, em solo infestado com *Phytophthora* sp. *Magistra, Cruz das Almas*, 1:36-45.
- Scheldeman, X., Motoche, J.P.R., Van Damme, V., Heyens, V., Van Damme, P. (2003) Potential of highland papayas (*Vasconcella spp.*) in Southern Ecuador. *Lyonia*, 5 (1): 73-80.

- Schuster, I., Vieira, E.S.N., Padilha, L. (2006) Marcadores moleculares no Pós-Melhoramento. In: Borém, A. e Caixeta, E.T. Marcadores moleculares. Viçosa: UFV, p.205-230.
- Sebbenn, A.M. (2001) Estrutura genética de populações de jequitibá-rosa (*Cariniana legalis*) por caracteres quantitativos e isoenzimas. Tese de Doutorado, Escola superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 210p.
- Sharon, D. Hillel, J., Vainsetein, A., Lavi, U. (1992) Application of DNA fingerprints for identification and genetic analysis of *Carica papaya* and other *Carica* species. *Euphytica*, Wageningen, 62:119-126.
- Silva, M.C.A., Tarsitano, M.A.N., Corrêa, L.S. (2004) Análise do custo de produção e lucratividade do mamão Formosa Cultivado no município de Santa Fé do Sul (SP). *Revista Brasileira de Fruticultura* 26: 40-43.
- Simão, S. (1971) Manual de Fruticultura. São Paulo, Ceres, 313-338.
- Siqueira, W.J., Fonseca, M.I.S, Sondhal, M.R. (1988) Regeneração de plantas híbridas entre *Lycopersicon esculentum* e *L. peruvianum* a partir de calos com dois anos de cultura *in vitro*. *Bragantia*. Campinas 47:1-8.
- Smith, H.F. (1936) A discriminant function for plant selection. *Annals of Eugenics*, Cambridge, 7:240-250.
- Sondur, S.N., Manshardt, R.M., Stiles, J.I. (1996) A genetic linkage map of papaya based on randomly amplified polymorphic DNA markers. *Theor. Appl. Genet.*, 93: 547-553.
- Storey, W.B. (1938) The primary flower types of papaya and the fruit types that develop from them. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 35: 83-85.
- Storey, W.B. (1941) The botany and sex relationships of the papaya. In: *Papaya production in the Hawaiian Islands*. Hawaii Agricultural Experiment Station, Bulletin 87:5-22.
- Storey, W.B. (1953) Genetics of the papaya. *J. Hered.*, Washington 44:70-78.
- Storey, W.B. (1976) Papaya. In: Simmonds NW (ed) *Evolution of crop plants*. Longman, San Francisco, p.21-24.
- Stuber, C.W. (1994) Enhancement of grain yield in maize hybrids using marker-facilitated introgression of QTLs. In: *PROCEEDINGS OF THE SYMPOSIUM ANALYSIS OF MOLECULAR MARKER DATA*, Corvallis: American Society for Horticultural Science, p.44-46.
- Tanurddzic, M., Banks, J.A. (2004) Sex-determining Mechanisms in Land Plants. *The Plant Cell*, 16:61-71.

- Vieira, E.A., Zimmer, P.D., Oliveira, A.C., Carvalho, F.I.F., Malone, G., Benin, G. (2005) Emprego de modelos gráficos na seleção de genitores de milho para hibridização e mapeamento genético. *Ciência Rural*, 35:986-994.
- Wadt, L.H.O., Ehringhaus, C., Kageyama, P.Y. (2004) Genetic diversity of "Pimenta Longa" genotypes (*Piper spp.*, Piperaceae) of the Embrapa Acre germoplasma collection. *Genetics and molecular biology*, 27:74-82.
- Williams, J.G., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalsky, L.A., Tingey, S.V. (1990) DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18:6531-6535.