

DIVERSIDADE GENÉTICA DE GENÓTIPOS ELITE DE *C. papaya*
VIA MARCADORES MOLECULARES E DESCRITORES DE
SEMENTES

FERNANDA SCHMITT GREGOLIN

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES / RJ

JULHO – 2023

DIVERSIDADE GENÉTICA DE GENÓTIPOS ELITE DE *C. papaya*
VIA MARCADORES MOLECULARES E DESCRITORES DE
SEMENTES

FERNANDA SCHMITT GREGOLIN

Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutora em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Henrique Duarte Vieira

CAMPOS DOS GOYTACAZES / RJ

JULHO - 2023

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

G819 Gregolin, Fernanda Schmitt.

DIVERSIDADE GENÉTICA DE GENÓTIPOS ELITE DE *C. papaya* VIA MARCADORES MOLECULARES E DESCRITORES DE SEMENTES / Fernanda Schmitt Gregolin. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2023.

144 f. : il.
Inclui bibliografia.

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2023.
Orientador: Henrique Duarte Vieira.

1. Qualidade de sementes. 2. Microsatélite. 3. Vigor. 4. Variáveis canônicas. 5. Correlação. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

DIVERSIDADE GENÉTICA DE GENÓTIPOS ELITE DE *C. papaya*
VIA MARCADORES MOLECULARES E DESCRITORES DE
SEMENTES

FERNANDA SCHMITT GREGOLIN

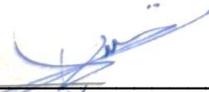
Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy
Ribeiro, como parte das exigências para
obtenção do título de Doutora em Produção
Vegetal.

Aprovada em: 28 de julho de 2023

Banca examinadora



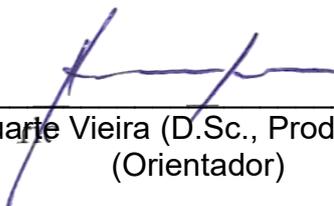
Eillen Azevedo Santos (titulação, Instituição) - Unemat



Alexandre Pío Viana (titulação, Instituição) - UENF



Rosenilda de Souza (D.Sc., Ciências) - UENF



Prof. Henrique Duarte Vieira (D.Sc., Produção Vegetal) - UENF
(Orientador)

DEDICO

Aos meus pais Arselia e Clovis
Às minhas irmãs Carine e Cristina

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Arselia e Clovis, por apoiarem minhas decisões, me ampararem e se fazerem presentes mesmo a distância;

Às minhas irmãs, Carine e Cristina e cunhado Eduardo, pelos infinitos momentos de alegria desfrutados e pelo incentivo durante períodos turbulentos;

Ao meu Orientador Henrique, que não mediu esforços e foi fundamental para a minha obtenção do título de Doutora em Produção Vegetal, pelas conversas, conselhos, apoio, conhecimento compartilhado e, principalmente, pelo cafezinho todos estes anos;

Ao Prof. Dr. Alexandre Pio Viana, pelo auxílio e compreensão durante toda a execução do projeto;

Aos amigos próximos e distantes, que se fizeram presentes tornando o processo leve e alegre, em especial, à Gessica, Laisa, Kalyane, Michele e Junior.

Aos colegas e amigos de Laboratório: Priscila, Karina, Laura, Carlos e Rose pelo apoio e pelos momentos de descontração;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense, pela oportunidade;

A Capes pela concessão da bolsa.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1.INTRODUÇÃO	1
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 <i>Carica papaya</i> origem e aspectos botânicos	3
2.2 Importância econômica.....	4
2.3 Fatores que afetam a germinação de sementes de <i>C. papaya</i>	5
2.4 Melhoramento genético do mamoeiro.....	7
2.5 Divergência e parâmetros genéticos via características de sementes.....	8
2.6 Uso do <i>software GroundEye®</i> na fenotipagem digital de sementes.....	9
3.ARTIGOS.....	11
FERRAMENTAS PARA PESQUISA E SELEÇÃO DE DESCRITORES DE SEMENTES EM <i>C. papaya</i> : A FENOTIPAGEM DIGITAL É UMA POSSIBILIDADE?.....	11

RESUMO	11
ABSTRACT.....	12
INTRODUÇÃO.....	13
MATERIAL E MÉTODOS	14
RESULTADOS	17
DISCUSSÃO.....	30
CONCLUSÃO	355
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	355

REDE DE CORRELAÇÕES E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MAMOEIRO.....	38
RESUMO	388
ABSTRACT.....	39
INTRODUÇÃO.....	400
MATERIAL E MÉTODOS	411
RESULTADOS	455
DISCUSSÃO.....	544
CONCLUSÃO	577
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS DE <i>C. papaya</i> COM USO DE DESCRITORES DE SEMENTES E ESTIMATIVA DE PARÂMETROS GENÉTICOS.....	600
RESUMO	600
ABSTRACT.....	601
INTRODUÇÃO.....	622
MATERIAL E MÉTODOS	633

RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	6767
CONCLUSÃO	763
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
MOLECULAR APPROACH IN ELITE PARENTS OF PAPAYA WITH A FOCUS ON SEED PHYSIOLOGICAL QUALITY	79
ABSTRACT.....	79
RESUMO	80
INTRODUCTION	811
MATERIALS AND METHODS	822
RESULTS	889
DISCUSSION	1000
CONCLUSION.....	1066
REFERENCES	10606
4.RESUMOS E CONCLUSÕES.....	1111
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	1133
APÊNDICES	1222
Apêndice A	1233
Apêndice B	12828

RESUMO

Gregolin, Fernanda Schmitt. D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Julho de 2023. Diversidade genética de genótipos elite de *C. papaya* via marcadores moleculares e descritores de sementes. Orientador: Prof. Henrique Duarte Vieira.

Com a caracterização molecular, quantificação da diversidade genética, estimativa dos parâmetros genéticos, determinação da qualidade fisiológica e caracterização fenotípica em sementes de 44 genótipos elites de *Carica papaya*, provenientes da Coleção de Germoplasma UENF/Caliman S/A, objetivou-se a seleção de genitores visando à obtenção de genótipos com alta qualidade de sementes. Para tal, foram realizados quatro experimentos: o primeiro buscou avaliar a possibilidade do uso de descritores fenotípicos de sementes, obtidos por fenotipagem digital e selecionar descritores capazes de determinar divergência genética existente entre genótipos de mamoeiro. Foram utilizados 169 descritores, dos quais 53 foram de Textura, 51 de Cor e 63 de Geometria, obtidos pelo *software* de análise *GroundEye*[®]. Com o uso de 3% dos descritores analisados, é possível realizar a caracterização fenotípica das sementes de mamoeiro. Portanto, o uso de descritores de sementes obtidos via fenotipagem digital demonstra ser uma técnica promissora e ferramenta útil na identificação de genótipos de mamoeiro via sementes. O segundo consistiu na avaliação da qualidade fisiológica de 44 genótipos elite de *C. papaya*, no qual foi observado que dez genótipos possuem germinação acima de 60%. A baixa porcentagem média de germinação (31%) está altamente correlacionada à alta porcentagem de sementes dormentes. O terceiro teve por objetivo quantificar a

divergência genética e estimar os parâmetros genéticos em sementes de mamoeiro, a fim de obter informações a respeito da herança de caracteres que auxiliem na obtenção de genótipos com alta qualidade de sementes. Para tal, foram estimados os componentes da variância fenotípica, (variância ambiental e genotípica), herdabilidade, índice de variação, e as variáveis canônicas para 14 características físicas, fisiológicas e fenotípicas em sementes de 44 genótipos de mamoeiro. A partir da estimativa dos parâmetros genéticos observou-se que as 14 características de sementes, dentre elas a germinação, possuem alta herdabilidade e Índice de Variação acima da unidade. Portanto, os resultados obtidos indicam que há possibilidade de ganhos no processo de seleção genótipos de *C. papaya*, visando à melhoria na qualidade de sementes. Por fim, o quarto experimento tem por intuito realizar uma caracterização molecular de genótipos de mamoeiro e investigar a qualidade fisiológica das sementes e usar estas informações para definir possíveis cruzamentos híbridos para obter genótipos com sementes de alta qualidade. A análise de dissimilaridade realizada via agrupamento UPGMA, com uso de marcadores moleculares, foi capaz de evidenciar a dissimilaridade entre os acessos do grupo Solo e Formosa e identificar os genótipos mais dissimilares. Por fim, foi possível identificar 18 cruzamentos promissores à melhoria na qualidade de sementes de *C. papaya*.

ABSTRACT

Gregolin, Fernanda Schmitt. D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. July 2023. Genetic diversity of elite *C. papaya* genotypes via molecular markers and seed descriptors. Advisor: Prof. Henrique Duarte Vieira.

The objective was to carry out the molecular characterization, quantify the genetic diversity via UPGMA grouping, estimate the genetic parameters, estimate the physiological quality of seeds and characterize seeds via digital phenotyping in 44 elite genotypes of *C. papaya*, from the Active Germplasm Bank UENF/ Caliman S/A, for the selection of high-quality parents, aiming at obtaining genotypes with high seed quality. For this purpose, four experiments were carried out. The first sought to evaluate the possibility of using phenotypic seed descriptors obtained by digital phenotyping and to select possible seed descriptors capable of determining existing genetic divergence in papaya genotypes. 169 descriptors were used, of which 53 were for Texture, 51 for Color and 63 for Geometry, obtained by the GroundEye® analysis software, with the use of 3% of the analyzed descriptors, it is possible to perform the phenotypic characterization of papaya seeds. Therefore, the use of seed descriptors obtained via digital phenotyping proves to be a promising technique and a useful tool in the identification of papaya genotypes via seeds. The second consists of evaluating the physiological quality of 44 elite genotypes of *C. papaya*. The second consists of evaluating the physiological quality of 44 elite genotypes of *C. papaya*., in which it was observed that ten genotypes have germination above 60%. The low average germination percentage (31%) is highly correlated with a high percentage of dormant seeds. The third aims to quantify the

genetic divergence and estimate the genetic parameters in papaya seeds, in order to obtain information about the inheritance of characters that help in obtaining genotypes with high seed quality. For this purpose, the components of Phenotypic Variance (Environmental and Genotypic Variance), Heritability, Variation Index, and canonical variables were estimated for 14 physical, physiological and phenotypic characteristics in seeds of 44 papaya genotypes. From the estimation of the genetic parameters, it was observed that the 14 seed characteristics, among them germination, have high heritability and Variation Index above unity. Therefore, the results obtained indicate that there is a possibility of gains in the process of selection of *C. papaya* genotypes, aiming at improving the quality of seeds. Finally, the fourth experiment aims to carry out a molecular characterization of papaya genotypes and investigate the physiological quality of the seeds and use this information to define possible hybrid crosses to obtain genotypes with high quality seeds. The dissimilarity analysis performed via UPGMA grouping, using molecular markers, was able to show the dissimilarity between the Solo and Formosa group accessions and identify the most dissimilar genotypes. Finally, it was possible to identify 18 possible crossings promising to improve the quality of *C. papaya* seeds.

1. INTRODUÇÃO

A *Carica papaya*, pertencente ao gênero *Carica*, é uma espécie isolada dentro do seu gênero, com grande importância econômica (Chávez-Pesqueira e Núñez-Farfán, 2017). Sua comercialização é realizada, principalmente, pela produção de frutos *in natura*, e de fármacos obtidos a partir de folhas e demais estruturas da planta (Vij e Prashar, 2015). Os pomares destinados à produção do mamoeiro estão sob cultivo de cultivares pertencentes aos grupos Solo e Formosa (Serrano e Cattaneo, 2010).

A propagação do mamoeiro ocorre por via seminífera. No entanto, a germinação das sementes ocorre de maneira lenta e desuniforme, sendo considerada uma germinação errática. A desuniformidade durante a germinação das sementes de mamoeiro pode ser ocasionada por diversos fatores como: época de colheita e estágio de maturação dos frutos (Melo e Seleguini, 2013; Melo et al., 2015), secagem e armazenamento (Berbert et al., 2008; Alonso-Esquivel et al., 2011) e escarificação (Jesus et al., 2015).

Esta germinação errática torna onerosa a manutenção da uniformidade do dossel de plantas, afetando tanto a manutenção da produtividade quanto o custo financeiro de implantação do pomar. Portanto, a obtenção de sementes de alta qualidade física e fisiológica garante uma germinação rápida e uniforme. Além disso, sementes de alto vigor formam plantas vigorosas, que são mais tolerantes aos estresses bióticos e abióticos.

Nesta perspectiva, a busca por genótipos, que possuem como característica a qualidade de sementes, vem despertando o interesse de programas de melhoramento genético vegetal ao longo dos anos, tendo em vista a importância da semente, tanto para a manutenção de recursos genéticos quanto para o estabelecimento da espécie a campo. Isso ocorre uma vez que o estabelecimento de pomares é afetado direta e indiretamente pelo uso das sementes de qualidade.

A qualidade das sementes resulta da combinação de fatores genéticos e fatores que afetam o seu desenvolvimento, como injúrias e impurezas, por exemplo (Krzyzanowski et al., 2020). Portanto, a obtenção de genótipos com alta qualidade de sementes, tanto genética quanto física e fisiológica, são fundamentais para a garantia do adequado desenvolvimento das sementes e posterior estabelecimento do estande de plantas.

Portanto, o estudo da divergência genética e dos parâmetros genéticos, com base em caracteres relacionados à qualidade de sementes, sejam elas físicas, fenotípicas ou fisiológicas, são ferramentas importantes para fundamentar as estratégias de seleção de novos genótipos, visando à melhoria da qualidade de sementes. Objetivou-se realizar a caracterização molecular, quantificar a diversidade genética via agrupamento UPGMA, estimar os parâmetros genéticos, estimar a qualidade fisiológica de sementes e caracterizar sementes via fenotipagem digital em 44 genótipos elites de *C. papaya*, provenientes da Coleção de Germoplasma UENF/Caliman S/A, para a seleção de progenitores com alta qualidade, visando à obtenção de genótipos com alta qualidade de sementes.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Carica papaya*: origem e aspectos botânicos

A *Carica papaya* L., popularmente conhecida como mamoeiro, é uma angiosperma pertencente à classe das dicotiledôneas e à família *Caricaceae*, composta por seis gêneros e 35 espécies. O mamoeiro é uma espécie isolada dentro do gênero *Carica* e estima-se que tenha divergido de seus parentes próximos há mais de 25 milhões de anos. Há divergências quanto ao centro de origem do mamoeiro, no entanto, sua provável origem é o Sul do México (Fuentes e Santamaría, 2014).

O mamoeiro é planta herbácea e pode atingir de 2,0 a 10,0 m de altura. Possui crescimento monopodial, com caule semilenhoso e oco, com 10 a 30 cm de diâmetro. O ápice é composto por folhas digitolobadas grandes e glabras, com nervuras verde-amarelas, pecíolo com 25 a 100 cm de comprimento e vasos de látex em todos os tecidos (Cotrut et al., 2017).

As plantas de *C. papaya* podem ser classificadas conforme o tipo de flor em femininas, masculinas e hermafroditas. O tipo de inflorescência varia de acordo com o sexo da planta, podendo ser estaminado, quando masculina; pistilado, quando feminina; ou ambos, quando a planta for hermafrodita. Suas flores com aproximadamente 4,0 cm de comprimento, são formadas na axila das folhas, em formato de funil e coloração creme branca (Cotrut et al., 2017).

Os frutos são do tipo baga e variam em tamanho e formato, quando maduros apresentam casca fina de coloração laranja-amarelada (Cotrut et al., 2017).

As sementes têm coloração marrom escura e formato elipsoide, com protuberâncias (Santos et al., 2009). A estrutura da semente é composta por tegumento, endosperma e embrião. O tegumento possui estrutura complexa, composta pela exotesta, endotesta, mesotesta e tégmem, que revestem o endosperma (Santos et al., 2009). A exotesta, também conhecida por sarcotesta, é a camada mais externa das sementes de mamoeiro e atua como uma proteção mucilagínosa que reveste toda a semente. A meso e a endotesta são oriundas do integumento externo. Enquanto a mesotesta é porosa e esponjosa, a endotesta é mais rígida e quebradiça. O tégmem é a camada mais profunda do tegumento originado a partir do integumento interno (Santos et al., 2009).

O endosperma das sementes é composto por células com paredes finas, com a presença de lipídios, camada de aleurona e ausência de amido. Sua coloração é branca leitosa de consistência firme. A semente é composta por um único eixo embrionário e dois cotilédones bem aderidos ao endosperma, com consistência firme e coloração branca leitosa, com embrião reto de formato ovoide achatado (Santos et al., 2009).

2.2 Importância econômica

O mamão é a terceira fruta tropical mais consumida no mundo, tendo, portanto, grande importância para o mercado mundial de frutas (Chávez-Pesqueira e Núñez-Farfán, 2017). A produção do mamoeiro é destinada, em sua maioria, para a produção e comercialização de frutos *in natura*. No entanto, possui grande importância para a indústria de alimentos e de fármacos, que são obtidos a partir de suas folhas, frutos e sementes.

Em 2019, a área de cultivo do mamoeiro, a nível mundial, era de aproximadamente 436 mil hectares, produzindo cerca de 14 milhões de toneladas, tendo como principal país produtor a Índia, responsável por 24,7% da produção. O Brasil é o terceiro maior produtor de mamão do mundo, produzindo cerca de 43.4 t ha⁻¹ em 2020 (FAO, 2022).

As principais Regiões produtoras do país são o Nordeste (55%) e o Sudeste (40%), seguidas das demais Regiões (5%). Os principais estados produtores são o Espírito Santo (403.278 t ano⁻¹), a Bahia (390.075 t ano⁻¹) e o Ceará (118.717 t ano⁻¹) (IBGE, 2021).

Embora a base genética, considerada estreita, tenha limitado a variabilidade genética do mamoeiro, estudos envolvendo técnicas clássicas de melhoramento (como o retrocruzamento, seleção recorrente e o uso de técnicas moleculares, como o uso de marcadores moleculares), permitiram o desenvolvimento de novas cultivares com diferentes características, como aumento da produtividade e tolerância às doenças, tamanho e qualidade dos frutos (Pereira et al., 2019a).

2.3. Fatores que afetam a germinação de sementes de *C. papaya*

Em relação à resposta das sementes de *C. papaya* quanto à sua tolerância à dessecação, Berbert et al. (2008) relatam que as sementes de mamoeiro se aproximam do observado por sementes ortodoxas. Contudo, Ellis et al. (1991) as classificaram como intermediárias por sofrerem injúrias quando armazenadas em baixas temperaturas (entre 0 e - 20 °C), ou quando secas até 4,2 e 5,3% de água, resultando na rápida perda de viabilidade das sementes.

O conhecimento da resposta fisiológica das sementes, quanto à sua tolerância à dessecação, se faz necessário para a manutenção da sua viabilidade, principalmente quando armazenadas. No entanto, são escassas as informações a respeito da secagem artificial de sementes de *C. papaya*, uma vez que, a maioria dos estudos que envolvem o processo de secagem avaliam a secagem na sombra ou em pleno sol. Não há, assim, o controle das condições às quais as sementes estão expostas como, por exemplo, o controle da umidade e da velocidade do ar durante a secagem das sementes.

Contudo, Berbert et al. (2008), ao avaliarem os efeitos do armazenamento e secagem das sementes, em secador do tipo cabine (37 °C de temperatura e 0,7 m³ min⁻¹ m⁻² de vazão específica do ar de secagem), no vigor de sementes de mamoeiro (híbrido UENF CALIMAN 01), observaram que a secagem complementar da semente, passando de 12,6 para 7,7% de umidade, reflete em efeitos imediatos da secagem e benéficos ao vigor da semente, representando aumento de cerca de 70% após a secagem complementar. Todavia, Jesus et al. (2016) observaram que o armazenamento de sementes com 7% de teor de água por 44 dias reduziu a germinação.

De acordo com Webster et al. (2016), a dessecação de sementes de *C. papaya* pode levar à ocorrência de dormência induzida, tornando a germinação lenta e irregular. Contudo, essa dormência pode ser superada com a reidratação das sementes e a exposição a um pulso de calor (choque térmico), ou pelo uso de giberelinas exógenas, antes de serem postas para germinar, fazendo com que o potencial do embrião em romper o tegumento das sementes retorne, e a dormência induzida seja superada. Os autores ressaltam que a germinação de sementes desidratadas após choque térmico é dependente da síntese *de novo* de proteínas associadas aos tecidos do endosperma e do embrião. Assim, a síntese proteica induzida pelo choque térmico, pode vir a atuar direta ou indiretamente na síntese de enzimas modificadoras de parede celular que, por sua vez, facilitam a expansão da célula embrionária e o enfraquecimento do endosperma.

Desta maneira, as alterações fisiológicas são desencadeadas pelo uso de giberelinas exógenas ou pelo choque térmico, que resulta no aumento do potencial de crescimento do embrião de tal maneira que ele consiga superar a barreira física imposta pelo tegumento. Assim, técnicas como o uso do choque térmico e aplicação de reguladores vegetais, como as giberelinas, vêm sendo utilizadas com sucesso para superar a dormência e padronizar a germinação das sementes após o armazenamento. De acordo com Webster et al. (2016), a restrição mecânica causada pelo tegumento após a secagem é um dos fatores que restringem a germinação das sementes. Assim, o rompimento manual do tegumento é suficiente para que a germinação ocorra.

Outros fatores, como o tamanho e peso das sementes, exercem influência na qualidade fisiológica das sementes de mamoeiro. Buides et al. (2017), ao avaliarem a qualidade fisiológica de sementes de diferentes dimensões, armazenadas por 28 meses a $6 \pm 2^\circ\text{C}$ e 11% de umidade, observaram que sementes grandes ($>4,7$ mm) possuem maior proporção de sementes viáveis, em relação às sementes intermediárias ($\leq 4,7$ e $\geq 4,0$ mm) e pequenas ($<4,0$ mm). No entanto, as sementes intermediárias possuem maior porcentagem de germinação, seguidas, em ordem decrescente, por sementes pequenas e grandes. Portanto, as sementes maiores de mamoeiro tendem a sofrer maior deterioração após o armazenamento prolongado. Martins et al. (2005) relatam que sementes grandes tendem a possuir maior porcentagem de germinação, quando comparadas às sementes intermediárias.

Portanto, a germinação de sementes de *C. papaya* é regulada por diferentes fatores presentes desde a época de polinização até os métodos utilizados para a remoção e conservação da semente.

2.4 Cultivares de mamoeiro e seu uso na agricultura

No Brasil existem três instituições que desenvolvem pesquisas envolvendo o melhoramento genético do mamoeiro: a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) / e Caliman Agrícola S/A; o Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper); e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Mandioca e Fruticultura.

O programa de melhoramento do Incaper está ativo desde meados de 1970 e tem, por objetivo, a avaliação de novos genótipos de mamoeiro para a posterior disponibilização aos agricultores. Estudos desenvolvidos pela Instituição envolvem a obtenção de novas cultivares, dentre elas a *Improved Sunrise Solo* – line 72/12. Suas pesquisas recentes estão voltadas, principalmente, para o grupo Formosa, visando cultivares com alta produtividade associada às características do fruto, desejáveis pelo mercado consumidor (Dantas et al., 2011).

A unidade da Embrapa Mandioca e Fruticultura deu início às pesquisas no melhoramento de *C. papaya* em 1995, a partir da Coleção de Germoplasma. Foram desenvolvidos estudos de avaliação da diversidade genética, obtenção de híbridos e linhagens adaptadas para diferentes condições climáticas e resistência a determinadas doenças e pragas (Dantas et al., 2011).

O programa de melhoramento do mamoeiro desenvolvido pela UENF, em parceria com a Caliman Agrícola S/A, está estabelecido desde 1996 e tem, por objetivo, o desenvolvimento de novos híbridos e variedades de mamoeiro, com uso do melhoramento clássico e de técnicas biotecnológicas (Pereira et al., 2019b). Diversas novas cultivares foram registradas no Registro Nacional de Cultivares (RNC) (Luz et al., 2015; Pereira et al., 2019a, b, c). Com destaque para o híbrido UENF/CALIMAN 01, desenvolvido pelo programa de melhoramento do mamoeiro UENF/CALIMAN Agrícola S/A, popularmente conhecido como Calimosa, foi o primeiro híbrido brasileiro de mamoeiro, recomendado para plantio.

O híbrido Calimosa vem sendo difundido em outros países através da exportação de sementes, obtendo boa adaptação às condições de cultivo e

aceitabilidade do mercado consumidor. Em 2019 a cultivar denominada UC 10, obtida a partir de cruzamento biparental (UCJS-12 e UC Sekati), indicada para cultivo nas Regiões Sudeste e Nordeste, demonstrou maior aceitação pelo consumidor e rendimento médio 40% superior ao híbrido Tainung 01 (Pereira et al., 2019a).

O programa de melhoramento do mamão da UENF, em parceria com a CALIMAN Agrícola S/A, desenvolveu uma série de cultivares, totalizando 21 híbridos registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Pereira et al., 2029a), demonstrando assim, o elevado desempenho do programa de melhoramento da UENF/CALIMAN Agrícola S/A na obtenção de novas cultivares, com características desejáveis, tanto para o produtor, quanto para o consumidor.

2.5 Divergência e parâmetros genéticos via características de sementes

Uma vez que, características como vigor, germinação e emergência de sementes e plântulas são controladas geneticamente, estudos de diversidade genética, com base em descritores físicos e fisiológicos de sementes, vêm sendo realizados em diferentes espécies como *Zea mays* (Nerling et al., 2013), *Glycine max* (Santos et al., 2012), *Passiflora* spp. (Torres et al., 2019). Tais estudos vêm obtendo sucesso na identificação de genitores divergentes e promissores para a melhoria da qualidade fisiológica de sementes.

Contudo, estudos que envolvem a avaliação da variabilidade genética para atributos físicos e fisiológicos de sementes de *C. papaya*, são escassos. Mengarda et al. (2015), ao estimarem a divergência genética com base em caracteres fisiológicos de sementes de mamoeiro, submetidas ou não ao envelhecimento acelerado, observaram que, em sementes não envelhecidas o tempo médio necessário para germinação foi a característica que mais contribuiu para dissimilaridade dos genótipos. Enquanto em sementes envelhecidas, a maior contribuição está relacionada ao comprimento de raiz.

Cardoso et al. (2009), ao avaliarem 30 acessos de *C. papaya*, observaram que o peso de mil sementes, comprimento da raiz e massa fresca de plântulas foram as variáveis que mais contribuíram para a divergência genética entre os genótipos. Além disso, os autores ressaltam que foi observada elevada diversidade

genética entre os acessos avaliados, e que as estimativas dos parâmetros genéticos, baseados em características fisiológicas das sementes, sugerem que há possibilidade de ganhos expressivos no processo de seleção.

De acordo com Mengarda et al. (2015), a avaliação da divergência genética, a partir da qualidade física e fisiológica das sementes, permite evidenciar genótipos que apresentam melhor desempenho como, por exemplo, maior vigor ou tolerância aos estresses, permitindo, assim, a escolha de genitores com maior potencial germinativo.

A qualidade fisiológica das sementes é fundamental para a formação de uma nova planta. No caso do mamoeiro, o alto valor financeiro agregado às sementes é um fator que contribui para a necessidade de estudos que visem estimar a divergência genética entre diferentes acessos de mamoeiro com base em descritores de semente. Através destes estudos, busca-se identificar genitores com características de sementes desejáveis como, por exemplo, a maior uniformidade de germinação.

2.6 Uso do *software GroundEye*® na fenotipagem digital de sementes

Diferentes estudos com o uso do *GroundEye*® estão descritos na literatura. No milho, o sistema foi capaz de diferenciar os diferentes lotes de sementes e não foram observadas diferenças significativas entre os dados de vigor obtidos pelo *software* e os obtidos pela avaliação em canteiro (Andriuzzi et al., 2020). Pinto et al. (2015) verificaram que o uso do equipamento é uma ferramenta importante para avaliação da qualidade de sementes de milho. Em sementes de milho pipoca, o *software* foi capaz de avaliar a qualidade de sementes e mudas submetidas a baixas temperaturas (Catão e Caixeta, 2017). Além disso, o *GroundEye*® foi utilizado com eficiência para realizar a categorização de sementes crioulas de milho, a partir de caracteres quantitativos (Ferreira et al., 2020). Andrade et al. (2016) utilizaram o *software* para adequar a metodologia e avaliar a eficiência do sistema na detecção de sementes esverdeadas em lotes de soja. Lima et al. (2018), ao avaliarem a qualidade fisiológica de Paricarana (espécie florestal), obtiveram resultados promissores, a partir da análise de vigor e da cor de sementes, fornecidos pelo *GroundEye*®. O mesmo foi observado em *Amaranthus* spp., em que a avaliação morfológica de sementes foi capaz de distinguir as diferentes espécies

através de características geométricas e de predominância de cores, fornecidas pelo *software* (Xavier et al., 2019).

Além das aplicações relacionadas à determinação da qualidade fisiológica de sementes, o equipamento vem sendo utilizado com sucesso em programas de melhoramento genético vegetal, para determinar a divergência genética entre diferentes acessos para diferentes espécies.

Em população segregante de *Passiflora* spp., Torres et al. (2019) observaram que a diversidade genética pode ser estimada a partir dos caracteres morfológicos das sementes, podendo ser avaliadas de maneira mais precoce e rápida do que a estimativa da diversidade a partir de caracteres fisiológicos de sementes. Fachi et al. (2019), ao avaliarem 98 famílias de meio-irmão completos, relatam que o uso de descritores de cor, geometria e textura, obtidos pelo *GroundEye*[®], associados ao método Ward-MLM, foi eficiente para quantificar a divergência genética entre as famílias de *Passiflora* spp., mesmo com um número reduzido de descritores. Rodrigues et al. (2023) verificaram que, com o uso de descritores fisiológicos e de geometria de sementes, foi possível selecionar 26 famílias para compor o ciclo de seleção recorrente para resistência ao CABMV em maracujazeiro.

Em goiabeira, Krause et al. (2017) atestaram a eficiência da análise de imagens digitais de sementes para quantificação da diversidade genética entre genótipos de famílias endogâmicas e atestaram a eficiência do uso da análise de imagens, quando associada ao método Ward-MLM. Portanto, o equipamento *GroundEye*[®] vem sendo uma ferramenta eficaz e promissora para avaliar a qualidade de sementes e diversidade genética a partir de caracteres de sementes.

3. ARTIGOS

FERRAMENTAS PARA PESQUISA E SELEÇÃO DE DESCRITORES DE SEMENTES EM *C. papaya*: A FENOTIPAGEM DIGITAL É UMA POSSIBILIDADE?

RESUMO

A fenotipagem digital de sementes e plantas se destaca como uma técnica ágil e viável na identificação e caracterização de diferentes materiais genéticos. Contudo, em sementes de mamoeiro, que possuem alto valor agregado, são inexistentes os estudos que avaliam o uso de descritores fenotípicos de sementes, obtidos por análise digital, para a caracterização e identificação de genótipos. Neste sentido, o estudo visa avaliar a viabilidade do uso da fenotipagem digital de sementes e selecionar possíveis descritores capazes de determinar divergência genética existente em genótipos de mamoeiro. Para tal, foram utilizados 169 descritores, dos quais, 53 foram de Textura, 51 de Cor e 63 de Geometria, obtidos pelo *software* de análise *GroundEye*[®] em 44 genótipos elite de Carica papaya. Pelo método de agrupamento UPGMA, com o uso de seis descritores de Cor, um de Textura e oito de Geometria (que correspondem a 14% dos descritores analisados), foi

possível identificar as diferenças e similaridades existentes nas sementes de *C. papaya*. O uso das variáveis canônicas permitiu a redução da dimensionalidade de dados e, com o uso de 3% dos descritores analisados, é possível realizar a caracterização fenotípica das sementes de mamoeiro. Portanto, o uso de descritores de sementes obtidos via fenotipagem digital demonstra ser uma técnica promissora e uma ferramenta útil na identificação de genótipos de mamoeiro via sementes.

Palavras-chave: Divergência genética, análise de imagens, variabilidade fenotípica, *GroundEye*[®], variáveis canônicas.

ABSTRACT

Digital phenotyping of seeds and plants stands out as an agile and viable technique in the identification and characterization of different genetic materials. However, in papaya seeds, which have high added value, there are no studies that evaluate the use of phenotypic seed descriptors, obtained by digital analysis, for the characterization and identification of genotypes. In this sense, the study aims to evaluate the feasibility of using digital phenotyping of seeds and to select possible seed descriptors capable of determining existing genetic divergence in papaya genotypes. For this, 169 descriptors were used, of which 53 were Texture, 51 Color and 63 Geometry, obtained by the *GroundEye*[®] analysis software in 44 elite genotypes of *Carica papaya*. Using the UPGMA grouping method and the use of six Color, one Texture and eight Geometry descriptors, which correspond to 14% of the analyzed descriptors, it is possible to identify differences and similarities existing in *C. papaya* seeds. The use of canonical variables allowed the reduction of data dimensionality and with the use of 3% of the analyzed descriptors, it is possible to carry out the phenotypic characterization of papaya seeds. Therefore, the use of seed descriptors obtained via digital phenotyping proves to be a promising technique and a useful tool in the identification of papaya genotypes via seeds.

Keywords: Genetic divergence, image analysis, phenotypic variability, *GroundEye*[®], canonical variables

INTRODUÇÃO

A fenotipagem digital adquiriu notoriedade em programas de melhoramento devido à rapidez e facilidade na avaliação de diferentes características. A técnica permitiu a determinação de características que nunca foram mensuradas e viabilizou o uso de descritores antes utilizados apenas em situações específicas (Fiorani e Schurr, 2013).

No que diz respeito à caracterização de sementes, estudos vêm demonstrando a viabilidade do uso da técnica na identificação e caracterização de genótipos (Krause et al., 2017; Ferreira et al., 2018; Fachi et al., 2019; Acha e Vieira, 2020; Kehel et al., 2020). Li et al. (2014) destacam a precisão, a possibilidade de avaliação com número elevado de descritores, o baixo custo, e sua facilidade de operação e manutenção, como vantagens na utilização da fenotipagem digital.

Neste sentido, a fenotipagem digital é uma ferramenta promissora para a caracterização de genótipos de mamoeiro, via descritores de sementes. A técnica pode ainda auxiliar na identificação de novos descritores de sementes. Descritores estes que possuam maior poder discriminatório, facilitando assim na identificação de genótipos em bancos e coleções de germoplasma, assim como na determinação de características desejáveis em sementes de *C. papaya*.

Na cultura do mamoeiro, a identificação de diferentes genótipos é realizada tanto com o uso de descritores morfológicos (folha, fruto, planta), quanto de sementes (cor, tamanho e peso), conforme recomendado pelo *International Board for Plant Genetic* (IBPGR, 1988). Todavia, os descritores de sementes, ao contrário dos descritores morfológicos, são pouco empregados na avaliação dos genótipos. Fatores como a subjetividade e dificuldade na determinação visual das características dificultam a caracterização via descritores de sementes, e podem ter contribuído para o baixo uso destes descritores na avaliação de genótipos de *C. papaya*.

Existem diferentes pesquisas que indicam o potencial de uso de descritores fenotípicos obtidos por análise digital de imagens, na caracterização e identificação de diferentes espécies (Acha e Vieira, 2020; Kehel et al., 2020; Fachi et al., 2019; Ferreira et al., 2018; Krause et al., 2017; Li et al., 2014). Já na cultura do mamoeiro, são inexistentes os estudos que avaliam o uso da técnica para a caracterização de

genótipos via sementes. Existe, portanto, a necessidade de maiores esforços para a obtenção de novos descritores, a fim de simplificar a identificação e caracterização de indivíduos via descritores de sementes.

Em decorrência da inexistência de pesquisas que avaliam de modo isolado o uso de descritores de sementes obtidos a partir da análise digital de imagens, há dificuldade na padronização e seleção destes descritores fenotípicos para a avaliação da divergência entre acessos de *C. papaya*. Por esta razão, o estudo visa avaliar o uso de descritores fenotípicos de sementes obtidos por meio da análise digital, com o propósito de determinar a viabilidade do uso destes descritores para a caracterização de genótipos de *C. papaya*.

MATERIAL E MÉTODOS

a) *Obtenção de Sementes*

Foram selecionados 44 genótipos elite de mamoeiro da Coleção de Germoplasma pertencente à Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF)/Caliman Agrícola S/A, localizada entre os paralelos 19°06' e 19°18' de latitude Sul e os meridianos 39°45' de longitude Oeste, no município de Linhares, Espírito Santo. O clima da região é do tipo Aw, conforme a classificação de Köppen, com chuvas de verão e inverno seco e 45 m de altitude (Alvares et al., 2013).

As sementes dos 44 genótipos foram obtidas a partir da autofecundação, quando linhagem, ou cruzamentos controlados, quando híbridos (Tabela 1), pertencentes aos grupos Formosa, Intermediário e Solo.

Após a coleta, os frutos foram conduzidos ao Setor de Produção e Tecnologia de Sementes do Laboratório de Fitotecnia (LFIT), do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da UENF, onde permaneceram em repouso em temperatura ambiente até atingirem o estágio V de maturação, quando se deu início ao processo de remoção da sarcotesta por fricção manual das sementes sobre peneira de malha de arame de aço (Vale et al., 2020). Após a remoção da sarcotesta, as sementes foram postas para secar à sombra até atingirem 12% de teor de água.

Tabela 1. Relação e descrição dos 44 genótipos de *Carica papaya*, obtidos da Coleção de Germoplasma da UENF/Caliman Agrícola S/A

Genótipo	Grupo	Categoria
<i>Sunrise Solo</i> (SS-72/12)	Solo	Linhagem
<i>Candy</i> Recíproco	Formosa	Híbrido
Aliança	Formosa	Linhagem
<i>Candy</i>	Formosa	Híbrido
UCLD08-05II5	Formosa	Linhagem
UCLD08-08II5	Formosa	Linhagem
UCLD08-29II5	Formosa	Linhagem
Caliman M5	Solo	Linhagem
<i>Sunrise Solo</i> 783	Solo	Linhagem
Costa Rica	Intermediário	Linhagem
Triwan ET	Intermediário	Linhagem
Grampola	Solo	Linhagem
<i>Sunrise Solo</i>	Solo	Linhagem
Caliman AM (amarelinho)	Solo	Linhagem
Caliman SG (Super Golden)	Solo	Linhagem
Kapoho polpa amarela	Solo	Linhagem
Baixinho de Sta Amalha (BSA)	Solo	Linhagem
<i>Sunrise Solo</i> TJ	Solo	Linhagem
Tailandia	Formosa	Linhagem
São Mateus	Intermediário	Linhagem
Kapoho polpa vermelha	Solo	Linhagem
<i>Sunrise solo</i> (Pro Tainung)	Solo	Linhagem
Baixinho Super	Intermediário	Linhagem
M-4	Solo	Linhagem
Califlora 209	Formosa	Linhagem
<i>Golden</i> tipo Formosa	Solo	Linhagem
STZ 03 peciolo curto	Solo	Linhagem
STA Helena III TRA 02A PLT 08	Formosa	Linhagem
STA Helena III TRA 14A PLT 05	Formosa	Linhagem
Papaya 46 claro	Solo	Linhagem
RN. Selecionado	Solo	Linhagem
Criola de Costa Rica	Formosa	Linhagem
B5 – Geraldo	Solo	Linhagem
Cimarron	Solo	Linhagem
JS12	Formosa	Linhagem
UCLA08-012	Formosa	Linhagem
UCLA08-013	Formosa	Linhagem
UCLA08-080	Formosa	Linhagem
UCLA08-088	Formosa	Linhagem
UCLA08-092	Formosa	Linhagem
UCLA08-097	Formosa	Linhagem
UCLA08-101	Formosa	Linhagem
THB	Solo	Linhagem
Vitória	Formosa	Híbrido

b) *Fenotipagem digital de sementes*

Foi utilizado o equipamento *GroundEye® System Mini* (TBIT, 2014) para análise das sementes. Para cada genótipo, as sementes foram dispostas na bandeja acrílica do equipamento e, em seguida, foram determinados 169 descritores, sendo eles: 53 de Textura, 51 de Cor e 63 de Geometria.

Na sequência, foi realizada triagem dos descritores descartando as variáveis estatísticas (média, variância, curtose, dentre outros) e de valor igual a zero, considerando até a segunda casa decimal (0,00). Por fim, foram obtidos 107 descritores, dos quais: 31 descritores de Cor; 24 de Textura, (Tabela 1A) e 45 de Geometria (Tabela 1B).

c) *Análise estatística*

O ensaio foi montado seguindo Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), composto por quatro repetições e 44 tratamentos (genótipos). Cada repetição foi composta por 50 sementes, totalizando 200 sementes por tratamento.

Para cada grupo de descritor (Cor, Textura e Geometria), foi realizado o teste de normalidade, homogeneidade (Shapiro Wilk e Bartlett, respectivamente), com auxílio do pacote estatístico ExpDes.pt do *software* R (Ferreira et al., 2022).

A análise de variância, a herdabilidade e a contribuição relativa dos caracteres, pelo método de Singh (Singh, 1981), foi determinada para cada grupo de descritores (Cor, Textura e Geometria), com uso do *software* estatístico Genes (Cruz, 2016). A partir da determinação da contribuição relativa dos descritores foi realizada a matriz de dados para análise de agrupamento dos genótipos via dendrograma. Para tal, foram utilizados descritores com contribuição relativa superior a 10, 8 e 5%, para a discriminação dos genótipos.

A matriz de dissimilaridade foi determinada pela distância generalizada de Mahalanobis e o agrupamento obtido pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Average*) (Cruz, 2016). A partir do melhor agrupamento, foi determinada as variáveis canônicas dos descritores de sementes de *C. papaya*, com auxílio do *software* estatístico Genes (Cruz, 2016).

RESULTADOS

Caracterização fenotípica de sementes de C. papaya via descritores de sementes

O resumo da análise de variância encontra-se na Tabela 3A, na qual é possível observar diferenças significativas entre os genótipos, nos níveis de 1 e 5% de probabilidade, para as 15 características de sementes analisadas.

Em relação aos descritores de Cor de sementes, fornecidos pelo *GroundEye*[®], dos 31 descritores avaliados, 11 possuem contribuição relativa acima de 1% (Figura 1). Dentre eles os descritores C15 (CIELab: a), C14 (CIELab: b), C29 (Predominante: Canal verde), C06 (Abaixo do Otsu: CIELab: L), C20 (CIELab: Dispersão de L) e C23 (Dominância preta), são responsáveis por mais de 80% da diversidade existente no fenótipo de sementes de *C. papaya*.

O sistema de cores CIELab representa as cores de acordo com sua cromaticidade, no qual uma cor é localizada por três valores: L, a luminância, expressa em porcentagem (de 0 para o preto a 100 para o branco); *a* e *b* são duas gamas de cor que vão, respectivamente, do verde ao vermelho e do azul ao amarelo, com valores que vão de -120 a +120 (Durmus, 2020; TBIT, 2014).

A Cor Predominante diz respeito à cor com maior ocorrência em determinado objeto, no sistema de cores RGB. Desta maneira, o descritor Verde Predominante é a média do canal verde (G do RGB) dos *pixels* de uma semente. O RGB é a abreviatura do sistema de cores aditivas formado por Vermelho (*Red*), Verde (*Green*) e Azul (*Blue*). Sendo assim, uma cor no sistema RGB pode ser descrita pela indicação da quantidade de vermelho, verde e azul que contém. A representação mais usual para as cores é a utilização da escala 0 a 255. Cada cor pode variar entre mínimo (completamente escuro) e máximo (completamente intenso). Portanto, quando todas as cores estão no mínimo, o resultado é preto e se todas estão no máximo, o resultado é branco (Süsstrunk et al., 1999; TBIT, 2014).

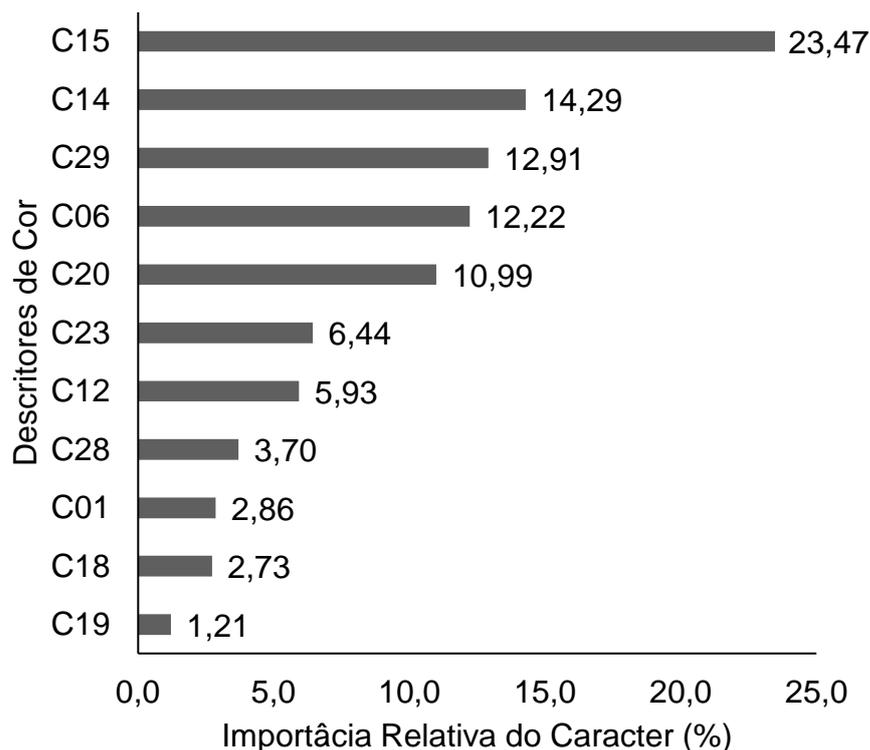


Figura 1. Contribuição relativa de descritores fenotípicos de Cor, obtidos via fenotipagem digital em sementes de *Carica papaya*. C15, CIELab:b; C14, CIELab:a; C29, Predominante: Canal verde; C06, Abaixo do Otsu: Canal Azul; C20, CIELab: Dispersão de L, C23, Dominância preta; C12, Acima do Otsu: CIELab:L; C28, Predominante Canal azul; C01: Abaixo do Otsu: Canal azul; C18, CIELab: Dispersão de “a” e C19, CIELab: Dispersão de “b”.

As sementes dos 44 genótipos de *C. papaya* possuem valores médios de 2,94; 2,51; 21,72; 8,15; 3,24; 0,97 e 15,23 para os descritores C15, C14, C29, C06, C20, C23 e C12, respectivamente (Tabela 4A), enquanto as sementes de genótipo Tailândia possuem média de 10,71; 5,33; 47,62; 14,84; 5,04; 24,63 e 0,58 para os descritores fenotípicos de sementes C15, C14, C29, C06, C20, C12 e C23, respectivamente (Tabela 4A). Portanto, as sementes do genótipo Tailândia se destacam das demais sementes por apresentarem valores médios diferentes daqueles apresentados pelas sementes dos demais genótipos indicando que sua coloração é diferente das demais sementes de *C. papaya*, como pode ser observado na Figura 2.

Para os descritores de Textura (Figura 3), o descritor T16 (*HGRE*) foi majoritariamente responsável pela diversidade existente em sementes de

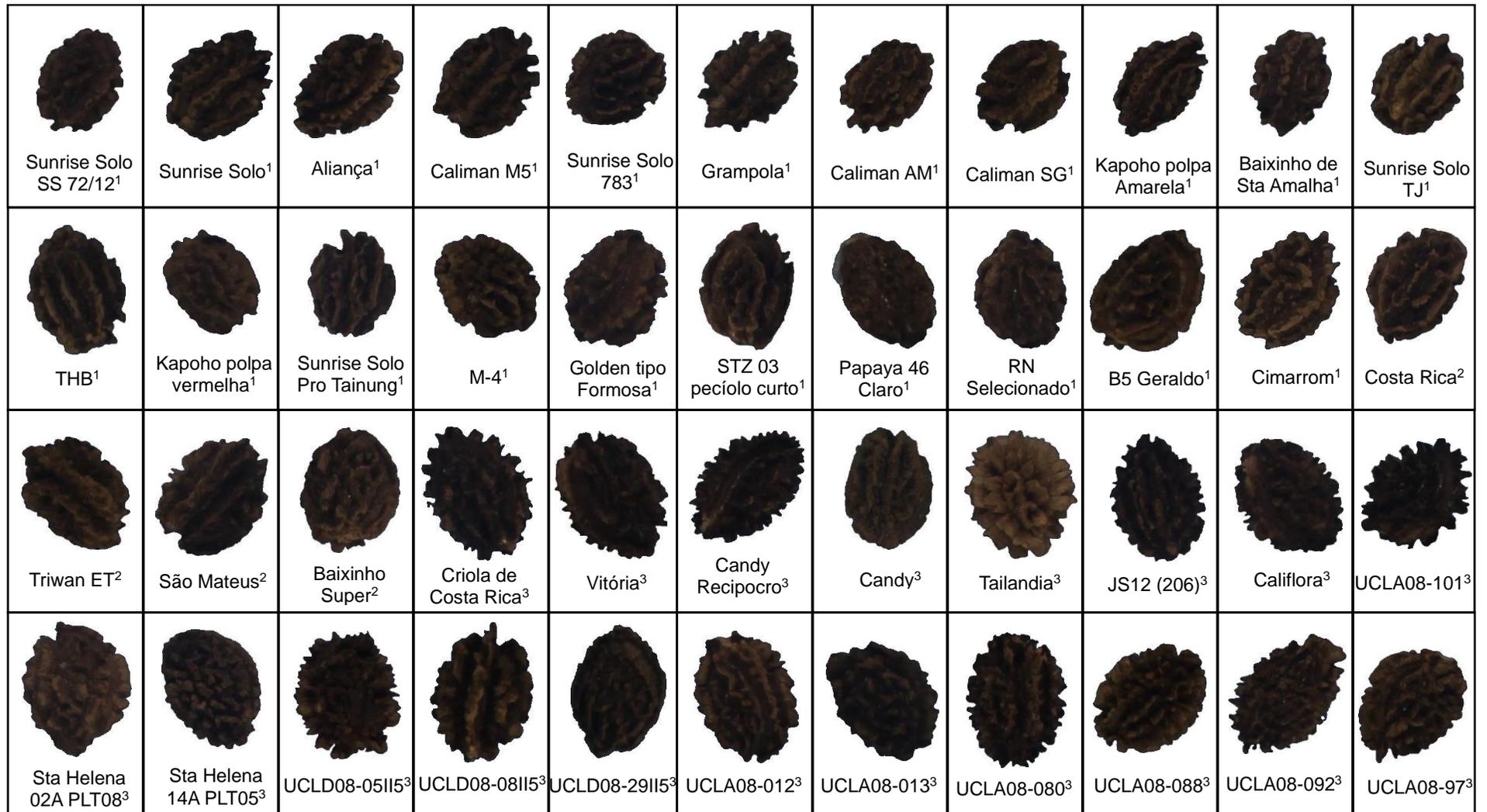


Figura 2. Sementes de 44 genótipos de *C. papaya*, caracterizadas via fenotipagem digital com o programa de análise de imagens *GroundEye*®.

mamoeiro. Os demais 23 descritores de Textura somados possuem menos de 1% de IR e, por este motivo, não influenciam na caracterização das sementes.

A Textura, conforme Tbit (2014), pode ser definida como um arranjo repetitivo de padrões sobre uma área, com o objetivo de medir a sua aspereza, observando fatores como as dependências de níveis de cinza. As texturas definem uniformidade, densidade, aspereza, regularidade, intensidade, entre outras características em uma imagem (Haralick et al., 1973). As principais propriedades de texturas descritas por Haralick descrevem os níveis de cinza da imagem, que são obtidos a partir da relação entre dois *pixels*. Assim o descritor T16 (*HGRE*), que estabelece a variação de cinza de curta duração, indica a alta irregularidade da superfície da semente.

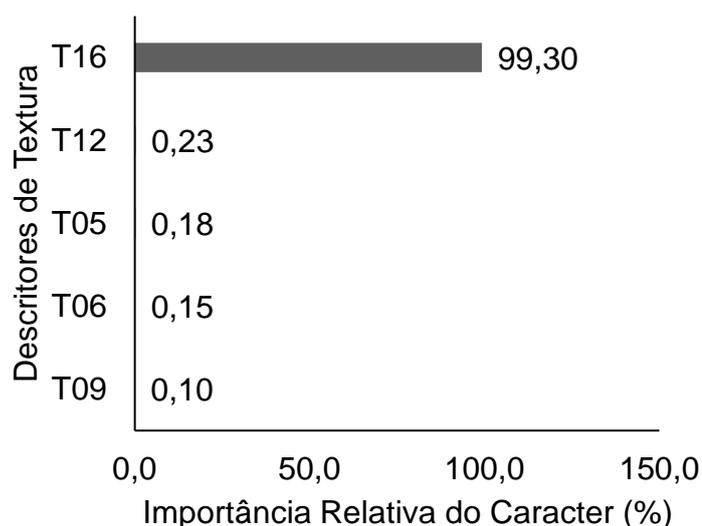


Figura 3. Contribuição relativa de descritores fenotípicos de Textura obtidos via fenotipagem digital em sementes de *Carica papaya*. T16, HGRE; T12, Laws: RW; T05, Laws: ES; T06, Laws: EW; T09, Laws: LS.

Para o descritor T16 de Textura de sementes de mamoeiro, obtido via fenotipagem digital, o valor médio de 839,99 foi obtido para os 44 genótipos analisados. Os genótipos Triwan ET, STA Helena III TRA 02A PLT 08, RN Selecionado, Cimarron, com destaque para o genótipo Tailandia, possuem valores médios superiores aos demais acessos, apresentando, respectivamente, 1.001,72, 1.228,01; 1.006,24; 1.247,34 e 2.287,94. O híbrido Vitória possui valor médio de

382,97 para o descritor T16, sendo este o menor valor obtido entre as sementes de *C. papaya*. As demais sementes para o descritor T16 possuem valores médios que variaram de 459,90 a 989,13 (Tabela 4A).

Os descritores de Geometria de sementes de *C. papaya*, dentre os três grupos de descritores analisados (Cor, Textura e Geometria), foram os que apresentaram maior número de descritores com contribuição relativa acima de 1%. Dos 45 descritores avaliados, 21 possuem contribuição relativa acima de 1%, dos quais nove são responsáveis por 80% da diversidade fenotípica observada em sementes de *C. papaya*. Sendo eles: G45 (SURF), G37 (Maior perímetro), G42 (Menor perímetro), G10 (Convexidade do contorno), G27 (Número de quinas por Susan), G07 (Circularidade por FFCm), G34 (Lado oposto à menor aresta), G30 (Quociente de aspecto), G38 (Média das maiores arestas) e G03 (Área convexa). Os demais 24 descritores de Geometria analisados possuem contribuição relativa igual ou próxima a zero (Figura 4).

Com exceção dos descritores G45 (SURF) e G27 (Número de quinas por Susan) que se trata de algoritmos, os demais descritores de importância estão relacionados ao formato e tamanho das sementes de mamoeiro.

O descritor SURF, proposto por Bay et al. (2006), trata de um algoritmo utilizado para a descrição de pontos de interesse de uma imagem. Pontos estes que não sofrem variação com a rotação da imagem, fator importante para a comparação entre pontos de interesse em imagens distintas existentes nos sistemas que exigem reconhecimento de objetos, em que os mesmos pontos podem ser identificados em diferentes imagens.

Os genótipos de *C. papaya* possuem valor médio de 22,59 para o descritor G45 (SURF). Os genótipos UCLD08-29II5, Vitória e Papaya 46 claro possuem, respectivamente, valores médios de 6,06; 9,07 e 9,90, sendo estes os menores valores médios observados para o descritor G45. O genótipo Tailândia possui valor médio de 80,51 para o mesmo descritor, valor aproximadamente 4x superior à média dos demais genótipos. O mesmo comportamento foi observado nos descritores G37, G42 e G27, em que, para o genótipo Tailândia, foram obtidos valores médios de 2,46 e 2,39 cm e 70,04, valores estes acima da média dos demais genótipos avaliados (Tabela 4A).

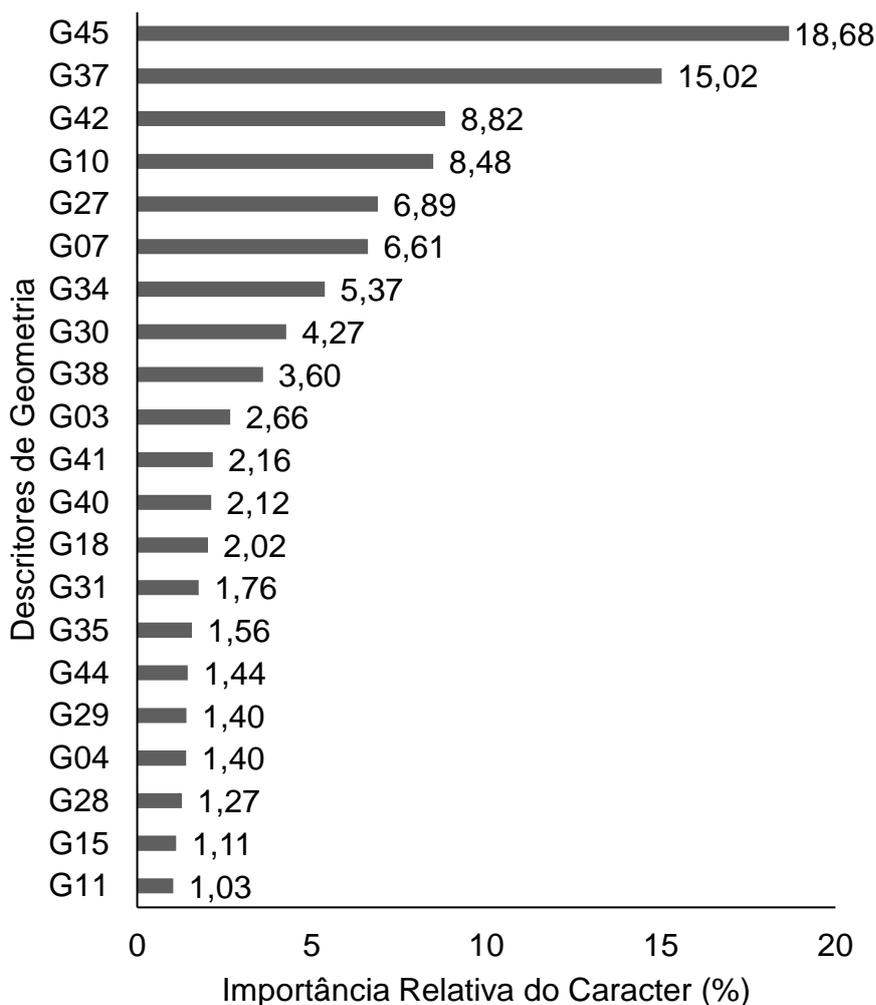


Figura 4. Contribuição relativa de descritores fenotípicos de Geometria obtidos via fenotipagem digital em sementes de *Carica papaya*. G45, SURF; G37, Retângulos circunscritos: maior perímetro; G42, Retângulos circunscritos: menor perímetro; G10 Convexidade do contorno; G27, Número de quinas por Susan; G07, Circularidade por FFCm; G34, Retângulos circunscritos: lado oposto à menor aresta; G30, quociente de aspecto; G38, Retângulos circunscritos: média das maiores arestas; G03, Área convexa; G41, Retângulos circunscritos: menor aresta; G40, Retângulos circunscritos: menor área; G18, Distorção entre área e área convexa; G31, Rácio de modificação; G35, Retângulos circunscritos: Maior área; G44, Solidez do contorno; G29, Perímetro convexo; G04, Circularidade; G28, Perímetro; G15, Diâmetro máximo lateral; G11, Deformação do contorno.

O descritor G27 trata de um algoritmo denominado SUSAN (*Smallest Univalued Segment Assimilating Nucleus*). Este algoritmo calcula o número de *pixels* que possuem brilho similar ao brilho do *pixel* central ou núcleo da máscara. Estes *pixels* são chamados de USAN (*Univalued Segment Assimilating Nucleus*), e os cantos (quinas) são detectados pela diferença de brilho entre os *pixels*, com o

cálculo da mínima USAN (Smith e Brady, 1997). Assim, como observado para os demais descritores, a média obtida no descritor G27 foi maior para as sementes do genótipo Tailândia e inferior nas sementes dos genótipos UCLD08-29II5, Papaya 46 claro e Vitória. Contudo, apesar da robustez quanto aos ruídos e agilidade computacional, a repetitividade dos valores obtidos pelo descritor G27 é baixa (Smith e Brady, 1997; TIBIT, 2014). Logo, o descritor G27 deve ser utilizado com cautela na caracterização de sementes de *C. papaya*.

Determinação da dissimilaridade fenotípica de sementes de C. papaya via descritores de sementes

O dendrograma formado a partir dos descritores fenotípicos de sementes que possuem contribuição relativa acima de 10% (D10) foi obtido com o uso de oito dos 107 descritores avaliados (Figura 5). Dentre os descritores utilizados estão cinco de Cor (C06, C15, C14, C20 e C29), um de Textura (T16) e dois de Geometria (G45 e G37).

A semente do genótipo Tailândia, no D10, foi a que apresentou maior dissimilaridade das demais sementes. A maior distância foi observada entre as sementes do genótipo UCLA08-013 e Tailândia (15.633,07), enquanto a menor dissimilaridade foi observada entre as sementes dos genótipos *Sunrise Solo* (SS72/12) e Grampola (4,56).

A partir do D10 é possível observar que, genótipos de genealogia comum ao *Sunrise Solo* (SS72/12), como o *Sunrise Solo* e o *Candy*, apresentaram alta similaridade. Contudo, para as sementes dos genótipos UCLD08-05II5 e UCLD08-29II5, obtidos de cruzamentos de meio-irmão, a alta dissimilaridade (1.057,02) foi observada.

Ao considerar a categoria dos frutos, é possível observar que o D10 não foi capaz de distinguir sementes obtidas de frutos do tipo Solo, Intermediário e Formosa, com o uso de oito descritores obtidos por fenotipagem digital.

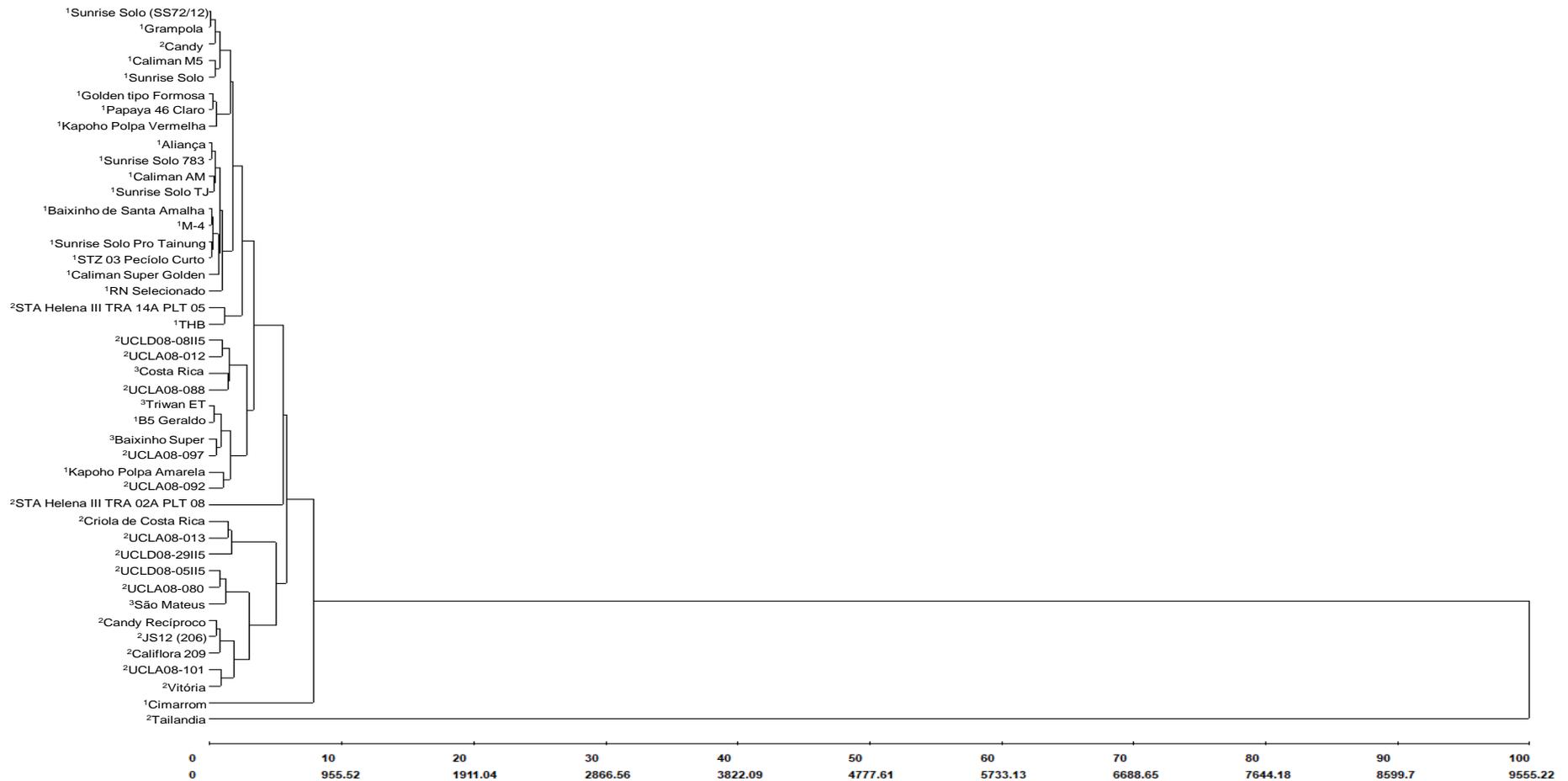


Figura 5. Dendrograma de dissimilaridade genética pelo método de agrupamento UPGMA, via descritores fenotípicos de sementes que possuem contribuição relativa acima de 10%, para 44 genótipos provenientes da Coleção de Germoplasma UENF/Caliman Agrícola S/A (coeficiente de correlação cofenética = 0,98). ¹Fruto tipo Solo, ²Fruto do tipo Formosa, ³Fruto tipo Intermediário.

O D08 foi composto por dez descritores: cinco de Cor (C15, C14, C29, C06 e C20), um de Textura (T16) e quatro de Geometria (G45, G37, G42 e G10) (Figura 6), e obteve resultados semelhantes aos obtidos pelo D10. A semente do genótipo Tailândia foi a mais dissimilar entre as sementes avaliadas. As sementes mais similares às do Tailândia foram as do STA Helena III TRA 02A PLT 08, com distância estimada de 7.258,90. Enquanto as mais divergentes foram as sementes do UCLA08-013, com distância de 12.675,75.

A maior similaridade foi obtida entre as sementes dos genótipos *Sunrise Solo* (SS-72/12) e Grampola, com distância de 5,26 e entre as sementes dos genótipos Aliança e *Sunrise Solo* 783, com distância de 13,07.

Com o aumento no número de descritores de oito (D10) para dez (D08), utilizados para a obtenção do dendrograma, foi possível observar a tendência de separação das sementes de acordo com o tipo de fruto (Solo, Formosa e Intermediário). Contudo, com base no conhecimento a respeito dos genótipos utilizados, é possível observar que os genótipos São Mateus e Cimarrom não foram bem discriminados pelo dendrograma obtido com o uso de 10 descritores fenotípicos de sementes.

Para o D05, obtido com descritores fenotípicos com contribuição relativa acima de 5% (Figura 7), foram utilizados 15 descritores de sementes de *C. papaya*, dos quais sete foram de Cor (C15, C14, C29, C06, C20, C23 e C12), um de Textura (T16) e sete de Geometria (G45, G37, G42, G10, G27, G07 e G34). Assim como nos demais dendrogramas, no D05 a maior similaridade foi estabelecida entre as sementes dos genótipos *Sunrise Solo* (SS/7212) e Grampola (12,10). O genótipo Tailândia é o que possui as sementes mais dissimilares das sementes obtidas nos demais genótipos de mamoeiro.



Figura 6. Dendrograma de dissimilaridade genética pelo método de agrupamento UPGMA, via descritores fenotípicos de sementes que possuem IR acima de 8%, para 44 genótipos provenientes da Coleção de Germoplasma UENF/Caliman Agrícola S/A (coeficiente de correlação cofenética = 0,98). ¹Fruto tipo Solo, ²Fruto do tipo Formosa, ³Fruto tipo Intermediário.



Figura 7. Dendrograma de dissimilaridade genética pelo método de agrupamento UPGMA, via descritores fenotípicos de sementes com contribuição relativa acima de 5%, para 44 provenientes da Coleção de Germoplasma UENF/Caliman Agrícola S/A (coeficiente de correlação cofenética = 0,99). ¹Fruto tipo Solo, ²Fruto do tipo Formosa, ³Fruto tipo Intermediário.

O D05, diferentemente do D10 e D08, foi capaz de evidenciar a dissimilaridade existente entre sementes obtidas de frutos do tipo Solo e Formosa. No entanto, a formação de grupos heteróticos não foi estabelecida conforme a classificação do tipo do fruto (Solo, Formosa ou Intermediário).

O resumo da análise de variância encontra-se na Tabela 1C, onde é possível observar diferenças significativas entre os genótipos, nos níveis de 1 e 5% de probabilidade, para os 15 descritores fenotípicos de sementes. A estimativa da herdabilidade (h^2) (Tabela 2) dos descritores utilizados para a análise da divergência genética no D05 evidenciou a alta h^2 . Os 15 descritores de sementes possuem h^2 acima de 99%, portanto, tratam-se de características com alta herdabilidade.

Tabela 2. Estimativas das variâncias Fenotípica (σ_f), Ambiental (σ_a) e genotípica (σ_g), do Índice de Variação (lv), e Herdabilidade (h^2 , %) para 15 descritores fenotípicos de sementes, em 44 genótipos de *Carica papaya*

Descritor	σ_f	σ_a	σ_g	h^2	lv
C15	2,97	0,01	2,96	99,72	9,40
C14	0,52	$15,9 \times 10^{-3}$	0,52	99,79	9,02
C29	22,70	0,08	22,62	99,65	8,48
C06	2,52	0,01	2,50	99,41	6,52
C20	0,38	$17,8 \times 10^{-3}$	0,38	99,53	7,31
C23	$3,9 \times 10^{-3}$	$8,0 \times 10^{-5}$	$3,93 \times 10^{-3}$	99,81	11,39
C12	5,70	0,04	5,67	99,35	6,17
T16	81855,85	292,53	81563,32	99,64	8,35
G45	148,46	0,71	147,75	99,52	7,21
G37	0,03	$1,3 \times 10^{-4}$	0,03	99,54	7,34
G42	0,03	$1,3 \times 10^{-4}$	0,03	99,53	7,24
G10	$2,3 \times 10^{-3}$	$1,2 \times 10^{-5}$	$2,3 \times 10^{-3}$	99,48	6,89
G27	121,95	0,80	121,15	99,35	6,17
G07	$2,5 \times 10^{-3}$	$1,3 \times 10^{-5}$	$2,5 \times 10^{-3}$	99,48	6,94
G34	$2,5 \times 10^{-3}$	$1,3 \times 10^{-5}$	$2,5 \times 10^{-3}$	99,47	6,86

C15, CIELab: b; C14, CIELab: a; C29, Predominante: Canal verde; C06, Abaixo do Otsu: CIELab: L; C20, CIELab: Dispersão de L; C23, Dominância preta; C12, Acima do Otsu: CIELab: L; T16, HGRE; G45, SURF; G37, Retângulos circunscritos: Maior perímetro; G42, Retângulos circunscritos: Menor perímetro; G10, Convexidade do contorno; G27, Número de quinas por Susan; G07, Circularidade por FFCm e G34, Retângulos circunscritos: Lado oposto à menor aresta.

Dentre as diferentes seleções de descritores de sementes utilizados para determinar a dissimilaridade entre as sementes de *C. papaya*, o D05 foi o que melhor agrupou os genótipos nos grupos Solo e Formosa. Seleções com o uso de descritores responsáveis por 80% da diversidade fenotípica, e com o uso de descritores com contribuição relativa acima de 6 e 4%, também foram analisados. No entanto, o resultado obtido com 6% foi similar ao obtido com 8%, e o mesmo ocorreu com o uso de descritores responsáveis por 80% da diversidade fenotípica. Por sua vez, o agrupamento com 4% assemelhou-se ao obtido com o uso de descritores com contribuição relativa acima de 5%.

Com o uso das variáveis canônicas (Figura 8) a análise evidenciou que, dentre os 15 descritores utilizados na discriminação de sementes de mamoeiro, o C29 (VC1), o G37 (VC2) e o C23 (VC3) foram os descritores responsáveis por 80% da dissimilaridade observada entre as sementes.

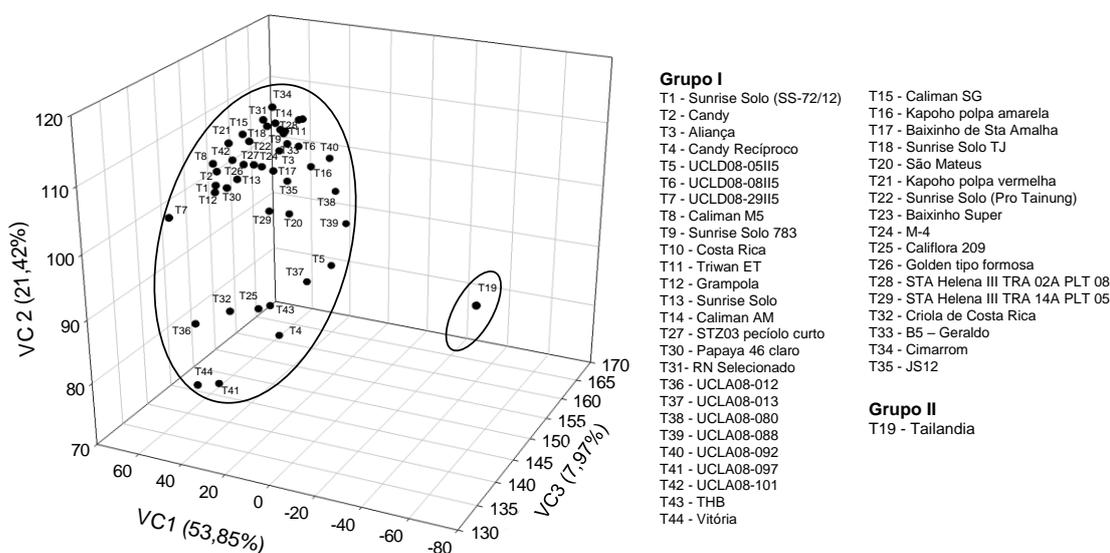


Figura 8. Variáveis canônicas para descritores fenotípicos de sementes, obtidos via fenotipagem digital, de *Carica papaya*.

DISCUSSÃO

Caracterização fenotípica de sementes de C. papaya via fenotipagem digital

O *software* de análise digital de imagens *GroundEye*[®] possui diferentes métodos de avaliação da cor (Sistema RGB e CIELab), textura (Haralick e Fourier) e Geometria (Susan e Harris) que garantem a obtenção de variáveis que abrangem diferentes magnitudes. A aplicação de métodos de determinação de características fenotípicas torna robusta e minuciosa a análise de imagens, reduzindo a perda de informações.

Com o uso de descritores fenotípicos, baseados na Cor das sementes de *C. papaya*, é possível evidenciar diferenças na coloração das sementes dos genótipos analisados. O descritor C15 (CIELab: a) indica a presença da cor verde para o genótipo UCLA08-013 (C15 = -0,1), enquanto para os demais genótipos, por se tratar de valores médios positivos, o descritor indica a presença da cor vermelha. Portanto, as sementes do genótipo UCLA08-013 são mais esverdeadas que as demais, mesmo que em baixa concentração.

Em contrapartida, a semente do genótipo Tailândia se distingue das demais sementes de mamoeiro para diferentes descritores de Cor. Estas sementes possuem maior predominância do canal verde (C29 = 47,63) das cores RGB, e valor médio de 14,48 e 5,04 para os descritores C06 (CIELab: L*) e C20 (CIELab: Dispersão de L*), respectivamente. Enquanto a média obtida para os descritores de sementes dos demais genótipos foi 21,73; 8,15 e 3,24, para os descritores C29, C06 e C20, respectivamente. Além disso, o descritor de sementes C23 no genótipo Tailândia possui valor médio de 0,58, valor este 1,7x inferior à média dos demais genótipos de mamoeiro analisados.

O descritor C23 varia de 0 a 1 e, quanto mais próximo de 1,0, mais preto é a coloração. Portanto, ao comparar as sementes do genótipo Tailândia com as sementes dos demais genótipos analisados, é possível constatar que sementes oriundas do Tailândia são mais claras e esverdeadas que as sementes obtidas dos demais genótipos, como pode ser observado na Figura 2.

O descritor de Textura (T16) de semente de *C. papaya* revelou a semelhança entre a maioria dos acessos. As sementes do genótipo Tailândia foram as que

apresentaram sementes mais irregulares e desuniformes, indicando que estas sementes possuem maiores protuberâncias que as demais. Em contrapartida, as sementes do genótipo Vitória são as mais uniformes e regulares, pois possuem pouca variação de cinza de curta duração.

Em relação à Geometria de sementes de *C. papaya*, a razão comprimento/largura é um dos descritores recomendados pelo *International Board for Plant Genetic* (IBPGR, 1988) para a identificação de sementes de mamoeiro. Todavia, tanto o comprimento quanto a largura e, por consequência, a razão comprimento/largura da semente, possuem importância relativa de 0%, não contribuindo neste estudo, para a identificação dos genótipos via descritores de sementes. Neste sentido, pode-se inferir que este descritor, atualmente utilizado para a caracterização de sementes de *C. papaya*, pode ser considerado como dispensável no estudo da divergência genética, por ser invariante entre os genótipos avaliados.

O descritor G45 (SURF) de Geometria de sementes de *C. papaya* foi o descritor com maior contribuição relativa observada para as diferentes sementes. Este descritor indica pontos que não sofrem alterações conforme o objeto é rotacionado. Portanto, quanto maior o número de pontos, maior a probabilidade de identificação do mesmo objeto (semente) em diferentes imagens. Este efeito ocorre devido à existência de maior número de pontos (características) fixos identificados em cada semente. Desta maneira, a identificação de mais pontos em comum facilita a discriminação e identificação da semente, como demonstrado por Borth et al., (2013), ao analisarem imagens distintas da mesma espécie, em que foram identificados vários pontos correspondentes de interesse que foram detectados entre diferentes imagens.

Nesta perspectiva, o genótipo Tailândia, por dispor de valores médios 4x acima da média das sementes dos demais genótipos para o descritor G45, pode ter sua identificação favorecida por apresentar maior número de pontos fixos. Enquanto as sementes dos genótipos UCLD08-29II5, Papaya 46 claro e Vitória, por deterem valores inferiores à média, podem ter a sua identificação e discriminação mais onerosa, quando comparadas às sementes dos demais genótipos.

Dentre os descritores de Geometria de sementes de mamoeiro com maior contribuição relativa, estão aqueles relacionados ao perímetro (G37 e G42) e forma da semente (G10, G27 e G07). Diferentemente dos descritores de Cor e Textura,

os descritores de Geometria de sementes mostram diferenças pequenas entre o tamanho e forma das sementes analisadas. Este fator pode ter contribuído para o baixo uso dos descritores baseados na geometria de sementes, recomendados pelo IBPGR na identificação de genótipos de mamoeiro, uma vez que manualmente estas diferenças são de difícil detecção.

Ao analisar as três categorias de descritores: Cor, Textura e Geometria, foi possível observar diferenças entre as sementes dos diferentes genótipos de *C. papaya*. Estas diferenças, mensuradas com o uso do *software* de análise digital de imagens, em muitos casos não são perceptíveis ao olho nu. Desse modo, a fenotipagem digital se mostra uma técnica promissora para a caracterização de sementes e pode vir a ser utilizada futuramente na identificação de genótipos via descritores de sementes de *C. papaya*. No entanto, estes descritores devem ser utilizados em novos estudos e genótipos, a fim de verificar a repetibilidade das informações obtidas.

Análise da dissimilaridade de sementes de C. papaya via descritores fenotípicos de sementes

No D05, ao utilizar 15 dos 107 descritores fenotípicos de *C. papaya*, foi possível verificar a dissimilaridade existente nas sementes dos diferentes genótipos analisados. Todavia, a formação de grupos heteróticos não ocorreu de acordo com o tipo de fruto (Solo e Formosa), como observado por Pirovani et al. (2020). O não agrupamento das sementes, conforme a categoria do fruto, é esperado, uma vez que as características do fruto (tamanho e peso) não foram consideradas.

A menor distância genética entre as sementes de frutos do tipo Solo e Formosa foi de 266,80 entre as sementes dos genótipos Kapoho polpa Amarela e UCLA08-097, enquanto a maior distância (14.793,60) foi obtida entre as sementes do *Sunrise Solo* (SS/7212) e do Tailândia. Portanto, fica evidente que sementes de frutos do tipo Formosa tendem a ser diferentes das sementes provenientes de frutos do tipo Solo. Além disso, as sementes de frutos classificados como Intermediário, como o Costa Rica e o São Mateus, possuem características comuns à categoria Solo e Formosa, possuindo, assim, sementes de características fenotípicas intermediárias.

Contudo, vale ressaltar que os frutos do mamoeiro são classificados nas categorias: Solo, Formosa e Intermediário, e a inserção do genótipo em sua respectiva categoria se dá em decorrência de aspectos relacionados ao peso e tamanho. Desta maneira, genótipos que produzem frutos grandes, acima de 1,0 kg por fruto, são classificados como fruto do tipo Formosa, enquanto frutos pequenos, com peso inferior a 0,5 kg, são classificados como do tipo Solo. Por fim, genótipos que produzem frutos de peso intermediário, entre 0,5 e 1,0 kg, são considerados do tipo Intermediário (Serrano e Cattaneo, 2010; Pereira et al., 2019). Portanto, a classificação dos frutos na categoria é em decorrência do tamanho dos frutos produzidos, não existindo qualquer relação com o tamanho, peso ou qualquer outra característica relacionada às sementes.

As sementes dos genótipos *Candy* e *Candy* Recíproco são híbridas e possuem distância genética de 1.165,49. Enquanto a semente do *Candy* ficou agrupada próxima às sementes de frutos do tipo Solo, as do seu recíproco (*Candy* Recíproco) foram alocadas no lado oposto do dendrograma, juntamente às sementes de frutos do tipo Formosa.

As posições distintas adotadas pelas sementes destes genótipos se devem ao efeito materno. De acordo com Macedo et al., (2013) em se tratando do efeito materno, a semente híbrida terá seu fenótipo expresso pelo genótipo do seu genitor feminino, ou seja, o genótipo das sementes (híbridas) da geração F_1 só será notado nas sementes da geração seguinte (F_2). Desse modo, a expressão fenotípica estará sempre há uma geração atrasada. Com relação à planta híbrida, isso não ocorre, pois, as plantas originadas dessas sementes híbridas F_1 apresentarão as características governadas pelos genes constituídos nessas sementes. Portanto, o efeito materno manifestado nestes genótipos fez com que as sementes dos híbridos *Candy* e *Candy* Recíproco, manifestassem características fenotípicas distintas, a primeira se assemelhando às sementes de fruto do tipo Solo e a segunda às do tipo Formosa.

O genótipo Cimarrom, pertencente à categoria Solo, foi a única linhagem a produzir sementes semelhantes às dos frutos do tipo Formosa. O genótipo Cimarrom possui estrutura genética bem definida, com alelos pertencentes ao grupo Formosa (Artigo 4). Este fator pode ter contribuído para que o fenótipo das sementes do genótipo Cimarrom sejam mais similares às sementes de frutos do tipo Formosa do que com as do tipo Solo.

A partir do conhecimento pré-existente dos genótipos utilizados, foi possível identificar o número de descritores de sementes que melhor descreveu e agrupou os genótipos de *C. papaya*. Portanto, é possível afirmar que o D05, com o uso de seis descritores de Cor, um de Textura e oito de Geometria, que correspondem a 14% dos descritores analisados, foi capaz de identificar as diferenças e similaridades existentes nas sementes de *C. papaya*.

Em relação ao uso das variáveis canônicas, foi possível observar a redução da dimensionalidade de dados, pois captura o efeito simultâneo de características originais. Desta maneira, descritores responsáveis por determinada característica fenotípica, que podem ser explicados por outros descritores, podem ser descartados. A exemplo disso, está o descritor T16, que pode ser explicado pelo G37. O T16 indica o elevado número de irregularidades existentes na superfície das sementes, enquanto o G37 mensura o maior perímetro destas sementes. Portanto, quanto maior o perímetro, maior será o número de irregularidades existentes na superfície da semente.

Conforme Cruz et al. (2012), o descarte destes descritores propicia redução de mão-de-obra, tempo e custo, contribuindo ainda para a mensuração mais acurada das variáveis importantes para a caracterização do genótipo, tendo em vista que descritores considerados como dispensáveis no estudo da divergência genética são os relativamente invariantes entre os genótipos avaliados e/ou explicados por outros descritores. Portanto, com o uso de 3% dos descritores analisados, é possível realizar a caracterização fenotípica das sementes de mamoeiro.

Para o IPBGR (1988), na caracterização de genótipos são realizadas avaliações de caracteres de alta herdabilidade, facilmente observados e que se expressam em todos os ambientes. À vista disso, a determinação dos parâmetros genéticos dos descritores fenotípicos utilizados no D05 (Tabela 2) evidenciou a alta herdabilidade (acima de 99%) dos 15 descritores analisados. Tais parâmetros indicam que a manifestação do fenótipo é controlada por fatores genéticos, portanto, não sofre influência do ambiente e são expressos em ambientes distintos (Borém e Miranda, 2013; Cruz et al., 2012). Portanto, os descritores analisados podem ser utilizados na caracterização de sementes e identificação de genótipos de *C. papaya*.

CONCLUSÃO

A fenotipagem digital é uma ferramenta viável na mensuração de descritores de sementes de mamoeiro.

Os descritores de sementes C23 (Dominância preta), G37 (Retângulos circunscritos: maior perímetro) e C29 (Predominante: Canal verde) podem ser utilizados em estudos de divergência genética do mamoeiro.

Existem diferenças fenotípicas entre sementes obtidas de frutos do tipo Solo e Formosa, principalmente em relação à Cor e Geometria.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acha, A.J., Vieira, H.D. (2020) Digital image processing of coated perennial-soybean seeds and correlation with physiological attributes. *Journal of Sees Science*, 42(e202042004):1–12.
- Alvares, C.A., Stape, L.J., Sentelhas, P.C., Gonçalves, J.L.M.V., Sparovek, G. (2013) Koppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologists Zeitschrift*, 22(6):711–728.
- Bay, H., Tuytelaars, T., Van Gool, L. (2006) SURF: Speeded Up Robust Features. *European Conference on Computer Vision*, 1, Berlin, Heidelberg: Lecture Notes in Computer Science, v. 3951:404–417.
- Borém, A., Miranda, G.V. (2013) *Melhoramento de plantas*. 6.ed. Viçosa, MG. Editora UFV, 523p.
- Borth, M.R., Pistori, H., Gonçalves, A.B., Freitas, U. (2013) Análise da extração de atributos do algoritmo SURF em espécies de peixe. *6º Seminário Internacional de Integração e Desenvolvimento Regional*, Ponta Porã, MS, p.1–10.
- Cruz, C.D. (2016) Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. *Acta Scientiarum - Agronomy*, 38(4):547–552.
- Cruz, C.D., Regazzi, A.J., Carneiro, P.C.S. (2012) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 4ed. Editora UFV, 514p.

- Durmus, D. (2020) CIELab color space boundaries under theoretical spectra and 99 test color samples. *Color Research and Application*, 45(5):796–802.
- Fachi, L.R., Krause, W., Vieira, H.D., Araújo, D.V., Luz, P.B., Viana, A.P. (2019) Digital image analysis to quantify genetic divergence in passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds. *Genetics and Molecular Research*, 18(2):gmr16039955.
- Ferreira, A.F.N., Krause, W., Faleiro, A.C., Miranda, A.F., Acha, A.J. (2018) Seleção de descritores de sementes de maracujazeiro azedo utilizando fenotipagem digital. *Agrarian Academy*, 5(10):181–190.
- Ferreira, B.E., Cavalcanti, P.P., Nogueira, D.A. (2022) *Pacote Experimental Designs* (Português), p.68.
- Fiorani, F., Schurr, U. (2013) Future scenarios for plant phenotyping. *Annual Reviews Plant Biology*, 64:267-291.
- Haralick, R.M., Shanmugam, K., Dinstein, I. (1973) Textural features for image classification. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*. 6ed., p.610–620).
- IBPGR - International Board for Plant Genetic. (1988) Descriptors for Papaya. International Board for Plant Genetic. 34p.
- Kehel, Z., Sanchez-garcia, M., Baouchi, A.E, Aberkane, H. (2020) Predictive characterization for seed morphometric traits for genebank accessions using genomic selection. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8(32):1–11.
- Krause, W., Viana, A.P., Cavalcante, N.R., Ambrósio, M., Santos, E.A., Vieira, H.D. (2017) Digital phenotyping for quantification of genetic diversity in inbred guava (*Psidium guajava*) families. *Genetics and Molecular Research*, 16(1):1–11.
- Li, L., Zhang, Q., Huang, D. (2014) A review of imaging techniques for plant phenotyping. *Sensors*, 14:20078–20111.
- Macedo, C.M.P., Pereira, M.G., Cardoso, D.L., Silva, R.F. (2013) Evaluation of seed physiological quality of papaya elite hybrids, their reciprocal crosses and parents. *Journal of Seed Science*, 35(2):190–197.
- Pereira, M.G., Poltronieri, T.P.D.S., Pereira, T.N.S., Ramos, H.C.C., Catarina, R.S., Vettorazzi, J.C.F., Arêdes, F.A.S., Boechat, M.S.B., Venâncio, T.M., Azevedo, A.O.N., Cortes, D.F.M., Moreira, N.F., Bohry, D., Felipe, S., Vivas, M., Ferreguetti, G.A. (2019) Twenty-two-year papaya breeding program: From breeding strategy establishment to cultivar. *Functional Plant Breeding Journal*, 1(2):9–27.

- Pirovani, A.A.V., Ramos, H.C C., Duarte, R P., Miranda, D.P., Bohry, D., Santana, J.G.S., Santos, P.H.A.D., Pereira, M.G. (2020) Molecular characterization of elite lines of papaya (*Carica papaya* L.) via SSR markers. *Functional Plant Breeding Journal*, 3(1):49–58.
- Santos, R.C. (2019) Fenotipagem digital, germinação de sementes e morfogênese *in vitro* de *Passiflora* spp. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, 128p.
- Serrano, L.A.L., Cattaneo, L.F. (2010) O cultivo do mamoeiro no Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32(3):657–959.
- Singh, D. (1981) The relative importance of characters genetic divergence. *Indian Journal of Genetics & Plant Breeding*, 41(2):237–245.
- Smith, S.M., & Brady, J.M. (1997) SUSAN - A New approach to low level image processing. *International Journal of Computer Vision*, 23(1):45–78.
- Süsstrunk, S., Buckley, R., Swen, S. (1999) Standard RGB color spaces. *Proc. IS T/SID 7th Color Imaging Conf*, 7, p.127–134.
- TBIT (2014) *Manual do usuário - SAS Sistema de Análise de Sementes*. Lavras, MG, 1ed. 250p.
- Vale, L. Sérgio R., Martins, P.H.M., Félix, M.J.D., Winder, A.R.S., Marques, M.L.S., Assis, E. (2020) Métodos de remoção da sarcotesta para superação de dormência em sementes de mamão. *Brazilian Journal of Development*, 6(6):41161–41174.

REDE DE CORRELAÇÕES E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MAMOEIRO

RESUMO

A obtenção de mudas uniformes, capazes de estabelecer uma cultura rentável, é fundamental para o sucesso da cultura do mamoeiro. Neste sentido, o estudo tem por objetivo avaliar a qualidade fisiológica de sementes de *C. papaya*, a fim de auxiliar na identificação e caracterização de genótipos promissores, que possam vir a ser utilizados em futuros programas de melhoramento do mamoeiro. Com este intuito, foram avaliadas 15 características de sementes em 44 genótipos de mamoeiro, mantidos pela Coleção de Germoplasma da UENF/Caliman S/A. Estimou-se o peso de mil sementes, a porcentagem de germinação, plântulas anormais, primeira contagem, sementes não germinadas, vazias e dormentes, o índice de velocidade de germinação e o desenvolvimento de plântulas (comprimento da parte aérea; raiz e total e peso seco da parte aérea; raiz e total). Dos 44 genótipos avaliados, dez possuem germinação acima de 60%. A baixa porcentagem média de germinação (31%) está altamente correlacionada à alta porcentagem de sementes dormentes, sendo necessário o uso de técnicas de superação da dormência nas sementes. O peso de mil sementes não se correlacionou ao aumento da germinação. Por fim, foi possível observar uma alta variabilidade genética em todas as características de sementes nos 44 genótipos, evidenciando a influência de fatores genéticos na qualidade de sementes de *C. papaya*.

Palavras-chave: poliploidia, vigor, *Carica papaya*

ABSTRACT

Obtaining uniform seedlings, capable of establishing a profitable crop, is essential for success with the papaya crop. In this sense, the study aims to evaluate the physiological quality of *C. papaya* seeds, in order to help in the identification and characterization of promising genotypes, which may be used in future papaya breeding programs. For this purpose, 15 seed characteristics of 44 papaya genotypes maintained by Germplasm Collection UENF/Caliman S/A were evaluated. The weight of a thousand seeds, the percentage of germination, abnormal seedlings, first count, non-germinated, empty and dormant seeds, the germination speed index and the development of seedlings (length of the area, root and total part and weight shoot, root and total part). Of the 44 genotypes evaluated, ten have germination above 60%. The low average percentage of germination (31%) is highly correlated with a high percentage of dormant seeds, requiring the use of techniques to overcome seed dormancy. The weight of a thousand seeds did not correlate with the increase in germination. Finally, it was possible to observe the high variability in all seed characteristics in the 44 genotypes, showing the influence of genetic factors on the quality of *C. papaya* seeds.

Keywords: polyploidy, vigor, *Carica papaya*

INTRODUÇÃO

A obtenção de mudas uniformes, capazes de estabelecer uma cultura rentável, é fundamental para o sucesso da cultura do mamoeiro, tendo em vista que o cultivo comercial e a conservação de *C. papaya* ocorre com o plantio de mudas obtidas via sementes. Contudo, a germinação da semente de *C. papaya* ocorre de maneira lenta e desuniforme. Esta germinação errática torna onerosa a obtenção de mudas e a manutenção da uniformidade do dossel de plantas, afetando tanto a produtividade quanto o custo financeiro de implantação do pomar.

No mamoeiro, a qualidade das sementes pode ser afetada pela presença da sarcotesta (tecido mucilaginoso que reveste as sementes) por conter fenóis em sua composição (Aroucha et al., 2005; Dias et al., 2015). No entanto, mesmo após a remoção da sarcotesta, a perda ou redução no vigor é observada.

Neste sentido, fatores como maturação das sementes, época de polinização das flores e colheita dos frutos podem estar atuando no processo germinativo. Dias et al. (2015) observaram que a germinação de sementes da cultivar Formosa Tainung variou de 21 a 78% de acordo com o estágio de maturação dos frutos e de 0 a 60% conforme a época de colheita dos frutos. Melo e Segnini (2015) observaram 15 e 43% de germinação de sementes colhidas de frutos nos estádios 3 e 5 de maturação, respectivamente, no híbrido Formosa Tainung 01. Aroucha et al. (2005) observaram na cv. Golden (Solo) que sementes colhidas em janeiro possuem germinação superior àquelas colhidas em setembro.

Carvalho e Nakagawa (2012) relatam que a qualidade das sementes resulta tanto da combinação de fatores ambientais, que afetam o vigor das sementes mesmo antes da sua formação, quanto de fatores genéticos. Portanto, a determinação da qualidade de sementes de diferentes genótipos é primordial para que avanços nos estudos que envolvem a melhoria na qualidade de sementes possam ser alcançados.

Nesta perspectiva, o estudo visa à determinação da qualidade fisiológica de genótipos superiores de *C. papaya*, amplamente utilizados para obtenção de novas cultivares, a fim de realizar a caracterização destes genótipos e contribuir com avanços em programas de melhoramento genético que visem à melhoria da qualidade de sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

a) Obtenção das Sementes

Foram selecionados 44 genótipos elite de mamoeiro da Coleção de Germoplasma pertencente à Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF)/Caliman Agrícola S/A, localizado entre os paralelos 19°06' e 19°18' de latitude Sul e os meridianos 39°45' de longitude Oeste, no município de Linhares, Espírito Santo. O clima da região é do tipo Aw, conforme a classificação de Köppen, com chuvas de verão e inverno seco e 45 m de altitude (Alvares et al., 2013). Foram obtidas sementes a partir da autofecundação, quando linhagem, ou cruzamentos controlados, quando híbridos (Tabela 1), pertencentes aos grupos Formosa, Intermediário e Solo.

Após a coleta, os frutos foram conduzidos ao Setor de Produção e Tecnologia de Sementes do Laboratório de Fitotecnia (LFIT), do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da UENF), onde permaneceram em repouso em temperatura ambiente até atingirem o estágio V de maturação, quando se deu início ao processo de remoção da sarcotesta por fricção manual das sementes sobre peneira de malha de arame de aço (Vale et al., 2020). Após a remoção da sarcotesta, as sementes foram postas para secar à sombra até atingirem 12% de teor de água.

b) Características Avaliadas

Peso de mil sementes

Determinado pela contagem, ao acaso, de oito repetições de 100 sementes, as quais foram pesadas em balança de precisão (0,0001 g). Os valores são expressos em gramas, com uma casa decimal, conforme estabelecido pelas Regras para Análise de Sementes (RAS) (Brasil, 2009).

Tabela 1. Genótipos elite utilizados na avaliação de características físicas, fisiológicas e fenotípicas em sementes de *Carica papaya*, provenientes da Coleção de Germoplasma UENF/ Caliman Agrícola S/A

Genótipo	Grupo	Categoria
<i>Sunrise</i> Solo (SS-72/12)	Solo	Linhagem
<i>Candy</i>	Formosa	Híbrido
Aliança	Solo	Linhagem
<i>Candy</i> Recíproco	Formosa	Híbrido
UCLD08-05II5	Formosa	Linhagem
UCLD08-08II5	Formosa	Linhagem
UCLD08-29II5	Formosa	Linhagem
Caliman M5	Solo	Linhagem
<i>Sunrise</i> Solo 783	Solo	Linhagem
Costa Rica	Intermediário	Linhagem
Triwan ET	Intermediário	Linhagem
Grampola	Solo	Linhagem
<i>Sunrise</i> Solo	Solo	Linhagem
Caliman AM	Solo	Linhagem
Caliman SG	Solo	Linhagem
Kapoho polpa amarela	Solo	Linhagem
Baixinho de Sta Amalha (BSA)	Solo	Linhagem
<i>Sunrise</i> Solo TJ	Solo	Linhagem
Tailandia	Formosa	Linhagem
São Mateus	Intermediário	Linhagem
Kapoho polpa vermelha	Solo	Linhagem
<i>Sunrise</i> solo (Pro Tainung)	Solo	Linhagem
Baixinho Super	Intermediário	Linhagem
M-4	Solo	Linhagem
Califlora 209	Formosa	Linhagem
<i>Golden</i> tipo formosa	Solo	Linhagem
STZ 03 pecíolo curto	Solo	Linhagem
STA Helena III TRA 02A PLT 08	Formosa	Linhagem
STA Helena III TRA 14A PLT 05	Formosa	Linhagem
Papaya 46 claro	Solo	Linhagem
RN. Selecionado	Solo	Linhagem
Criola de Costa Rica	Formosa	Linhagem
B5 – Geraldo	Solo	Linhagem
Cimarron	Solo	Linhagem
JS12	Formosa	Linhagem
UCLA08-012	Formosa	Linhagem
UCLA08-013	Formosa	Linhagem
UCLA08-080	Formosa	Linhagem
UCLA08-088	Formosa	Linhagem
UCLA08-092	Formosa	Linhagem
UCLA08-097	Formosa	Linhagem
UCLA08-101	Formosa	Linhagem
THB	Solo	Linhagem
Vitória	Formosa	Híbrido

Teste de Germinação

Realizado de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009). Para tanto, de cada genótipo proveniente da Coleção de Germoplasma foram retiradas quatro repetições de 50 sementes, que foram acondicionadas em germinadores regulados para manter a temperatura alternada de 20-30 C (16 h de escuro e 8 h de luz, respectivamente). A avaliação das plântulas foi realizada 30 dias após a instalação do teste, e os resultados obtidos foram expressos em porcentagem de sementes germinadas.

Primeira contagem da germinação

Realizado 14 dias após a montagem do teste de germinação, realizando-se a contagem do número de plântulas normais e os resultados expressos em porcentagem (Krzyzanowski et al., 2020).

Índice de Velocidade de Germinação

Realizado em concomitância ao teste de germinação, considerando-se germinada a semente que rompeu o tegumento e emitiu radícula com, pelo menos, 2 mm de comprimento. As avaliações foram realizadas a cada dois dias, à mesma hora, a partir do dia em que foi constatada a germinação da primeira semente. O procedimento foi repetido até completar 30 dias. O cálculo do índice de velocidade de germinação foi realizado de acordo com Maguire (1962).

Teste de Tetrazólio

As sementes não germinadas do teste de germinação foram submetidas ao teste de tetrazólio, a fim de verificar a viabilidade das sementes dos diferentes genótipos de mamoeiro e classificá-las como sementes vazias, mortas ou dormentes (Figura 1).

Para tal, as sementes foram seccionadas longitudinalmente para exposição do embrião e submergidas em solução de 2,3,5 trifenil-tetrazólio a 1% por 6 horas, no escuro, a 40°C. Em seguida, as sementes foram lavadas em água corrente e

observadas individualmente com o auxílio de lupa eletrônica, e as sementes que apresentaram embriões de coloração rósea brilhante e consistência firme foram consideradas viáveis e dormentes (Carvalho et al., 2018).

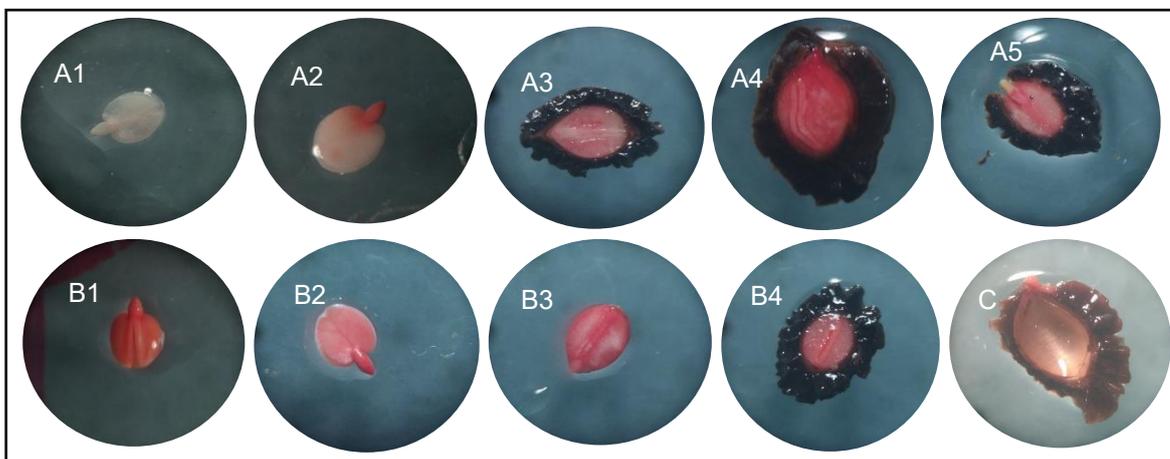


Figura 1. Sementes de *C. papaya*, submetidas ao teste de viabilidade. A1, A2, ..., An, sementes classificadas como mortas; B1, ..., Bn sementes classificadas como dormentes e C, sementes classificadas como vazias.

Desempenho de plântulas

Realizado em concomitância ao teste de germinação, as plântulas normais foram avaliadas com o auxílio de régua graduada. Foi mensurado o comprimento da parte aérea (comprimento do colo ao ápice da plântula - cm) e da raiz (comprimento do colo da plântula até a extremidade distal da raiz - cm) e comprimento da plântula (soma do comprimento da parte aérea e da raiz da plântula - cm) (Krzyzanowski et al., 2020).

Após mensuração, as plântulas foram seccionadas em parte aérea e raiz para a determinação do peso seco. A determinação do peso seco foi realizada pelo método gravimétrico, em que as amostras das plântulas foram acondicionadas em sacos de papel e postas para secar em estufa a 70 °C por 72 horas. Após secagem, estas foram resfriadas (dessecador em temperatura ambiente) e pesadas (balança de precisão) para determinação do peso seco da parte aérea, da raiz e total (g) (Krzyzanowski et al., 2020).

Análise estatística

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com 44 tratamentos (genótipos) e quatro repetições. Os dados foram interpretados estatisticamente por meio de análise de variância e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade com o uso do programa Genes (Cruz, 2016).

As correlações foram estimadas pelo método de Pearson e a estimativa das significâncias das correlações foi realizada pelo teste t, com auxílio do programa computacional Genes (Cruz, 2016). A rede de correlações foi plotada com o programa Rbio (Bhering, 2017), e a espessura e a intensidade da cor das bordas foram controladas por aplicação de um valor de corte igual a 0,6, o que significa que apenas $|r_{ij}| \geq 0,6$ têm suas linhas destacadas. Por fim, correlações positivas foram coloridas de verde, enquanto as negativas foram retratadas em vermelho. A rede de correlação foi realizada com o uso do *software* computacional SAS (SAS, 2009).

RESULTADOS

O resumo da análise de variância encontra-se na Tabela 2, no qual é possível observar diferenças significativas entre os genótipos, nos níveis de 1 e 5% de probabilidade para as 15 características de sementes analisadas.

O Peso de Mil Sementes (PMS) médio dos 44 genótipos de mamoeiro foi de 15,11g. O genótipo Kapoho da polpa vermelha, com PMS de 9,89g e o UCLD08-05II5, com 21,43g possuem o menor e maior PMS, respectivamente (Tabela 3).

A normativa do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2019), que diz respeito à comercialização de sementes de *C. papaya*, estabelece como critério mínimo 60% de germinação. Nesta perspectiva, é possível observar que 75% dos genótipos avaliados possuem sementes com germinação abaixo do critério mínimo estabelecido para a comercialização de sementes de mamoeiro.

A porcentagem de Plântulas Anormais (PA) foi em média 7,32%. O genótipo Papaya 46 Claro se destaca, negativamente, com 46% de PA, sendo esta, a maior porcentagem obtida. Dos 44 genótipos de mamoeiro, 70% possuem PA abaixo de

10%, no entanto, em 50% destes genótipos a baixa porcentagem de plântulas anormais está associada à baixa germinação. À exceção disto estão os genótipos *Candy Recíproco*, UCLA08-088, UCLA08-092, Tailandia e THB, que possuem alta germinação associada à baixa formação de plântulas anormais.

Tabela 2. Resultado da análise de variância de 15 características de sementes, em 44 genótipos de *Carica papaya*

Característica	Quadrado médio		Média	CV (%)
	Genótipos	Resíduo		
PMS	24,48 *	0,11	15,11	2,16
CPA	8,85 *	0,11	1,27	25,80
CR	14,58 *	0,22	1,66	28,58
CP	45,10 *	0,52	2,92	26,50
PSPA	1410,27 *	15,46	18,98	20,72
PSR	120,49 *	1,85	5,09	27,01
PST	2310,34 *	21,27	24,07	19,16
G	4839,51 *	33,63	31,24	18,56
1C	1623,06 *	13,31	11,16	32,69
PA	407,29 *	19,86	7,29	61,10
SNG	5757,70 *	31,36	61,47	9,11
SV	313,28 *	13,82	7,37	50,42
SM	4408,29 *	67,65	45,55	18,06
SD	373,00 *	56,47	8,54	87,94
IVG	10,09 *	0,06	1,40	17,03

*Significativo a 1%. CV %, coeficiente de variação; PMS, Peso de Mil Sementes (g); CPA, Comprimento da Parte Aérea da plântula (cm); CR, Comprimento da Raiz da plântula (cm); CP, Comprimento da Plântula (cm); PSPA, Peso Seco da parte aérea (g); PSR, Peso Seco da Raiz (g); PST, Peso Seco Total (g); 1C, Primeira Contagem (%); G, Germinação (%); PA, Plântulas Anormais (%); SNG, Semente Não Germinada (%); SV, Sementes Vazias (%); SM, Sementes Mortas (%); SD, Sementes Dormentes (%) e IVG, Índice de Velocidade de Germinação.

Tabela 3. Média de características de sementes de 44 genótipos elite de *C. papaya*

Genótipo	PMS	1C	G	PA	SNG	IVG
<i>Sunrise Solo</i> (SS-72/12)	11,52 i	74 a	76 b	19 c	5 f	5,83 a
<i>Candy Recíproco</i>	12,86 h	43 b	93 a	3 a	5 f	4,65 b
<i>Aliança</i>	13,67 g	13 e	37 e	15 c	48 c	1,89 g
<i>Candy</i>	18,48 b	40 b	51 c	3 a	47 c	2,72 e
UCLD08-05II5	21,43 a	13 e	71 b	11 b	18 e	3,17 d
UCLD08-08II5	15,37 e	4 f	58 c	11 b	32 d	2,27 f
UCLD08-29II5	12,52 h	6 f	77 b	16 c	7 f	1,90 g
Caliman M5	13,42 g	0 f	3 g	2 a	96 a	0,17 k
<i>Sunrise Solo</i> 783	14,70 f	0 f	0 g	0 a	100 a	0,01 k

Tabela 3, Cont.;

Genótipo	PMS	1C	G	PA	SNG	IVG
Costa Rica	15,30 e	0 f	4 g	0 a	96 a	0,09 k
Triwan ET	15,39 e	19 d	43 d	12 b	46 c	2,37 f
Grampola	12,81 h	0 f	4 g	3 a	94 a	0,19 k
<i>Sunrise</i> Solo	14,45 f	0 f	5 g	2 a	94 a	0,04 k
Caliman AM	15,44 e	11 e	20 f	10 b	70 b	1,20 i
<i>Sunrise</i> Solo 783	14,70 f	0 f	0 g	0 a	100 a	0,01 k
Costa Rica	15,30 e	0 f	4 g	0 a	96 a	0,09 k
Triwan ET	15,39 e	19 d	43 d	12 b	46 c	2,37 f
Grampola	12,81 h	0 f	4 g	3 a	94 a	0,19 k
<i>Sunrise</i> Solo	14,45 f	0 f	5 g	2 a	94 a	0,04 k
Caliman AM	15,44 e	11 e	20 f	10 b	70 b	1,20 i
Caliman SG	13,37 g	2 f	7 g	6 b	87 a	0,25 k
Kapoho polpa amarela	18,82 b	0 f	0 g	2 a	98 a	0,04 k
Baixinho de Sta Amalha	15,23 e	0 f	1 g	2 a	98 a	0,07 k
<i>Sunrise</i> Solo TJ	14,15 f	0 f	1 g	2 a	98 a	0,07 k
Tailandia	15,39 e	73 a	78 b	0 a	23 e	3,84 c
São Mateus	16,23 d	0 f	2 g	0 a	98 a	0,07 k
Kapoho polpa vermelha	9,89 j	0 f	15 f	9 b	77 b	0,80 j
<i>Sunrise</i> solo (Pro Tainung)	15,23 e	0 f	2 g	2 a	97 a	0,08 k
Baixinho Super	16,12 d	0 f	3 g	3 a	94 a	0,06 k
M-4	11,69 i	0 f	0 g	3 a	97 a	0,05 k
Califlora 209	18,32 b	0 f	2 g	0 a	98 a	0,06 k
<i>Golden</i> tipo formosa	12,03 i	0 f	1 g	1 a	98 a	0,04 k
STZ 03 pecíolo curto	15,09 e	12 e	69 b	7 b	24 e	3,09 d
STA Helena III TRA02APLT08	15,06 e	0 f	0 g	1 a	99 a	0,01 k
STA Helena III TRA14APLT05	16,03 d	0 f	0 g	0 a	100 a	0,00 k
Papaya 46 claro	12,41 h	6 f	21 f	46 f	34 d	2,19 f
RN. Selecionado	13,81 g	28 c	55 c	5 a	41 c	2,49 f
Criola de Costa Rica	15,16 e	0 f	0 g	0 a	100 a	0,00 k
B5 – Geraldo	14,71 f	0 f	0 g	2 a	99 a	0,06 k
Cimarron	12,55 h	0 f	2 g	7 b	92 a	0,20 k
JS12	16,07 d	0 f	0 g	5 b	96 a	0,14 k
UCLA08-012	18,80 b	69 a	85 a	10 b	6 f	4,43 b
UCLA08-013	13,53 g	2 f	54 c	10 b	37 d	2,19 f
UCLA08-080	17,64 c	1 f	37 e	27 d	36 d	0,95 j
UCLA08-088	15,03 e	26 c	94 a	0 a	6 f	3,90 c
UCLA08-092	17,78 c	11 e	88 a	2 a	10 f	1,72 h
UCLA08-097	16,52 d	0 f	87 a	5 b	8 f	1,22 i
UCLA08-101	15,81 d	2 f	55 c	37 e	8 f	1,70 h
THB	13,34 g	37 b	85 a	2 a	13 f	4,12 c
Vitória	21,78 a	0 f	0 g	26 d	74 b	1,31 i

PMS, Peso de Mil Sementes (g); 1C, Primeira Contagem (%); G, Germinação (%); PA, Plântulas Anormais (%); SNG, Semente Não Germinada (%); IVG, Índice de Velocidade de Germinação e VG, Velocidade de Germinação (dias). Médias seguidas de mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Sementes de genótipos, como por exemplo o B5-Geraldo, Kapoho da polpa amarela, STA Helena III TRA 02A PLT 08 e JS12, possuem germinação igual a zero e média de 98% de SNG. De acordo com a RAS (Brasil, 2009), a germinação de sementes corresponde à proporção do número de sementes que produziu plântulas classificadas como normais (possui sistema radicular e parte aérea) nas condições e períodos estipulados para o teste. Portanto, a baixa porcentagem de plântulas anormais (2%), observada nos exemplos citados, indica que o embrião rompeu o tegumento e emitiu a radícula, no entanto, não foi capaz de produzir uma plântula normal, não sendo assim considerada germinada.

O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) médio foi de 1,4. As sementes do *Candy Recíproco*, *Sunrise Solo* (SS-72/12) e UCLA08-012 com 4,65; 5,83; 4,43, respectivamente, são as que alcançaram os maiores índices de velocidade de germinação.

Na avaliação do desempenho de plântulas (Tabela 4), as sementes dos genótipos de *C. papaya* possuem em média: 1,27; 1,66 e 2,93 cm de CPA, CR e CP, respectivamente, com peso seco médio de 19,98; 5,09 e 24,07 g para o PSPA, PSR e PST, respectivamente.

As plântulas dos genótipos UCLA08-088, UCLA08-012, UCLA08-013 e UCLA08-092 possuem maior CPA, com 4,46; 4,16; 5,16 e 4,52 cm, respectivamente, e CR com 6,01; 5,92; 5,48; 5,62 cm, respectivamente. Por conseguinte, o comprimento das plântulas destes genótipos foi superior às demais, com 10,47; 10,07; 10,64 e 10,18 cm nos genótipos UCLA08-088, UCLA08-012, UCLA08-013 e UCLA08-092, respectivamente. No entanto, as sementes dos genótipos UCLD08-05II5 e THB alcançaram 70,00 e 73,25 g, respectivamente, produzindo as plântulas com maior peso seco total (PSPA + PSR).

Tabela 4. Valores médios do desempenho de plântulas de 44 genótipos elite de *C. papaya*

Genótipo	CPA	CR	CP	PSPA	PSR	PST
<i>Sunrise Solo (SS-72/12)</i>	1,73 e	2,19 d	3,92 e	27,75 d	7,25 d	35,00 e
<i>Candy Recíproco</i>	1,15 e	1,96 d	3,71 e	33,00 c	7,25 d	40,25 e
<i>Aliança</i>	1,70 e	1,67 d	3,37 e	32,00 c	5,00 e	37,00 e
<i>Candy</i>	1,53 e	3,31 c	4,83 d	41,75 b	12,00 b	53,75 c
UCLD08-05II5	3,16 c	4,40 b	7,56 b	54,25 a	15,75 a	70,00 a
UCLD08-08II5	2,78 c	2,99 c	5,78 c	47,50 b	11,00 c	58,50 b
UCLD08-29II5	0,71 g	1,48 d	2,19 f	33,25 c	6,00 e	39,25 e
Caliman M5	0,32 g	0,31 e	0,64 g	5,00 f	2,00 f	7,00 g
<i>Sunrise Solo 783</i>	0,00 g	0,00 e	0,00 g	0,00 g	0,00 f	0,00 h
Costa Rica	0,26 g	0,51 e	0,77 g	0,00 g	0,00 f	0,00 h
Triwan ET	2,45 d	2,63 c	5,08 d	43,75 b	10,75 c	54,50 c
Grampola	0,10 g	0,10 e	0,20 g	3,50 f	0,75 f	4,25 g
<i>Sunrise Solo</i>	0,04 g	0,06 e	0,10 g	1,75 g	0,25 f	2,00 h
Caliman AM	2,79 c	2,17 d	4,91 d	31,00 c	8,00 d	39,00 e
Caliman SG	0,29 g	0,33 e	0,62 g	7,00 f	1,25 f	8,25 g
Kapoho polpa amarela	0,00 g	0,00 e	0,00 g	0,00 g	0,00 f	0,00 h
Baixinho de Sta Amalha	0,04 g	0,08 e	0,12 g	1,00 g	0,50 f	1,50 h
<i>Sunrise Solo TJ</i>	0,58 g	0,06 e	0,12 g	0,00 g	0,00 f	0,00 h
Tailandia	2,18 d	4,62 b	6,80 b	33,00 c	13,25 b	46,25 d
São Mateus	0,14 g	0,39 e	0,53 g	4,00 f	1,50 f	5,50 g
Kapoho polpa vermelha	1,14 f	1,62 d	2,76 f	26,75 d	4,50 e	31,25 f
<i>Sunrise solo (Pro</i>						
<i>Tainung)</i>	0,16 g	0,40 e	0,57 g	3,50 f	0,75 f	4,25 g
Baixinho Super	0,00 g	0,00 e	0,00 g	0,00 g	0,00 f	0,00 h
M-4	0,00 g	0,00 e	0,00 g	0,00 g	0,00 f	0,00 h
Califlora 209	0,22 g	0,55 e	0,77 g	6,50 f	1,50 f	8,00 g
<i>Golden tipo formosa</i>	0,00 g	0,00 e	0,00 g	0,00 g	0,00 f	0,00 h
STZ 03 pecíolo curto	2,87 c	4,83 b	7,70 b	37,25 c	13,75 b	51,00 c
STA Helena III						
TRA02APLT08	0,00 g	0,00 e	0,00 g	0,00 g	0,00 f	0,00 h
STA Helena III						
TRA14APLT05	0,00 g	0,00 e	0,00 g	0,00 g	0,00 f	0,00 h
Papaya 46 claro	0,51 g	0,57 e	1,08 g	23,50 e	3,50 e	27,00 f
RN Selecionado	3,17 c	2,68 c	5,85 c	36,25 c	10,25 c	46,50 d
Criola de Costa Rica	0,00 g	0,00 e	0,00 g	0,00 g	0,00 f	0,00 h
B5 – Geraldo	0,00 g	0,00 e	0,00 g	0,00 g	0,00 f	0,00 h
Cimarron	0,17 g	0,39 e	0,56 g	4,50 f	1,25 f	5,75 g
JS12	0,00 g	0,00 e	0,00 g	0,00 g	0,00 f	0,00 h
UCLA08-012	4,46 b	6,01 a	10,47 a	35,50 c	7,75 d	43,25 d
UCLA08-013	4,16 b	5,92 a	10,07 a	30,00 c	6,75 d	36,75 e
UCLA08-080	1,49 e	1,78 d	3,22 e	34,50 c	15,50 a	50,00 c
UCLA08-088	5,16 a	5,48 a	10,64 a	45,50 b	15,75 a	61,25 b
UCLA08-092	4,52 b	5,66 a	10,18 a	21,75 e	5,00 e	26,75 f

Tabela 4, Cont.;

Genótipo	CPA	CR	CP	PSPA	PSR	PST
UCLA08-097	1,09 f	1,83 d	2,92 f	44,25 b	11,25 c	55,50 c
UCLA08-101	2,11 d	2,90 c	5,01 d	28,50 d	8,25 d	36,75 e
THB	2,90 c	3,21 c	6,11 c	57,50 a	15,75 a	73,25 a
Vitória	0,00 g	0,00 e	0,00 g	0,00 g	0,00 f	0,00 h

CPA, Comprimento da Parte Aérea da plântula (cm); CR, Comprimento da Raiz da plântula (cm); CP, Comprimento da Plântula (cm); PSPA, Peso Seco da Parte Aérea (g); PSR, Peso Seco da Raiz (g); PST e Peso Seco Total (g). Médias seguidas de mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

As sementes não germinadas dos 44 genótipos, após teste de viabilidade, foram classificadas em vazias, mortas e dormentes (Figura 2). Em média, para os 44 genótipos foi observado 7,9 e 45% de sementes vazias, mortas e dormentes, respectivamente.

O genótipo M-4, com 97% de sementes não germinadas, foi o genótipo com maior porcentagem de sementes vazias (41%). Enquanto os genótipos *Candy*, *Candy* Recíproco, UCLD08-08II5, UCLD08-29II5, *Sunrise* solo (Pro Tainung), Baixinho Super, Califlora 209, Papaya 46 claro, Criola de Costa Rica, UCLA08-012, UCLA08-097 e UCLA08-101 possuem menos de 2% de sementes vazias.

Em relação à porcentagem de sementes mortas, 80% dos genótipos possuem em média, menos de 15% das sementes não germinadas classificadas como mortas. Os genótipos STA Helena III TRA 02A PLT 08 e Criola de Costa Rica, com 35 e 39,5%, foram os genótipos com maior porcentagem de sementes mortas.

Em contrapartida, 22 genótipos possuem mais de 50% das sementes não germinadas classificadas como dormentes, com destaque para os genótipos *Sunrise* solo (Pro Tainung) e Cimarrom, que possuem mais de 90% das sementes não germinadas classificadas como dormentes.

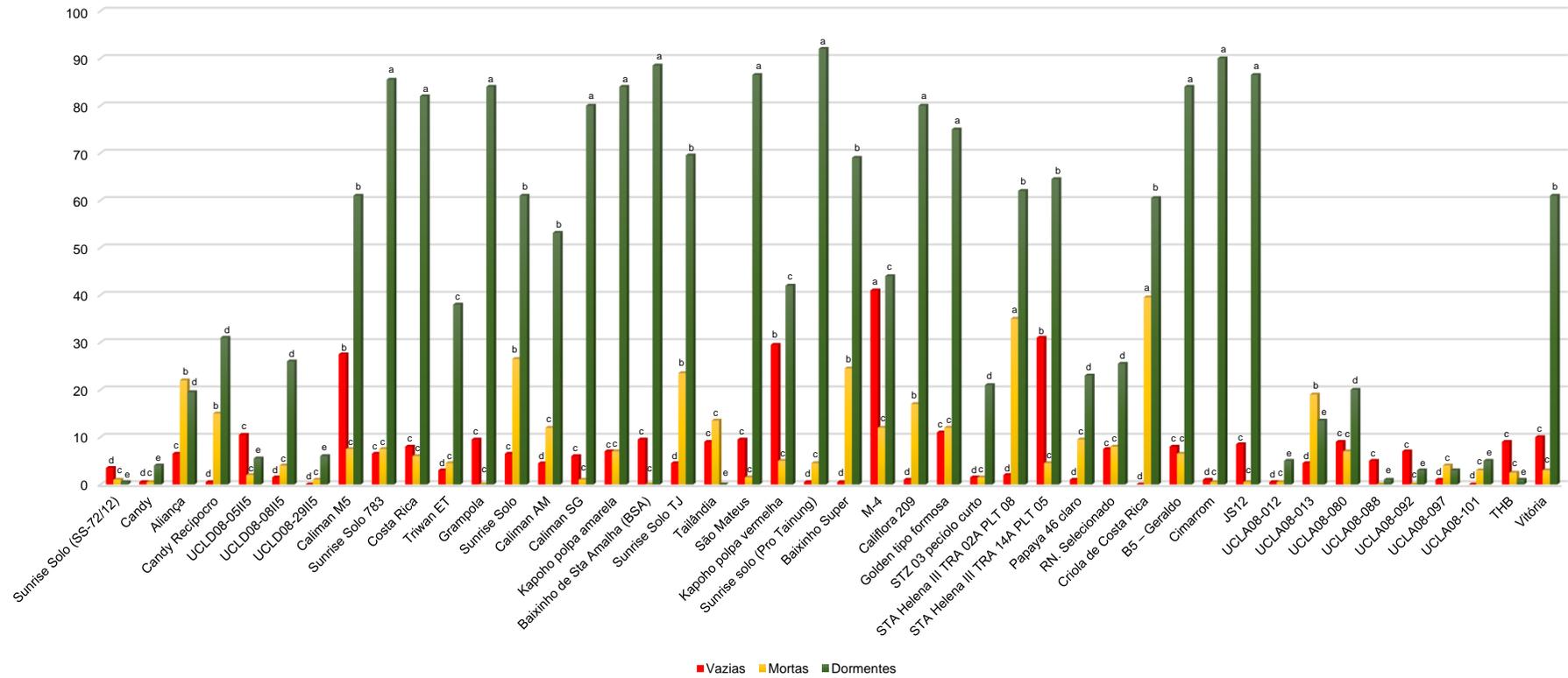


Figura 2. Valores médios de sementes Vazias, Mortas e Dormentes em 44 genótipos de *C. papaya*, provenientes da Coleção de Germoplasma de mamoeiro UENF/Caliman S/A. Médias seguidas de mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Em relação ao desenvolvimento das plântulas, é possível observar correlação forte a moderada entre o IVG e o CPA, CR, CP, PSP, PSR, PST e 1C. Este comportamento ocorre, pois, as sementes que germinam rápido tendem a formar, aos 30 dias, plântulas maiores que as que germinam vagorosamente. Portanto, sementes que possuem germinação rápida e uniforme tendem a dispor de maior IVG e a formar plântulas mais desenvolvidas, do que as sementes que possuem germinação lenta e desuniforme (Figura 3).

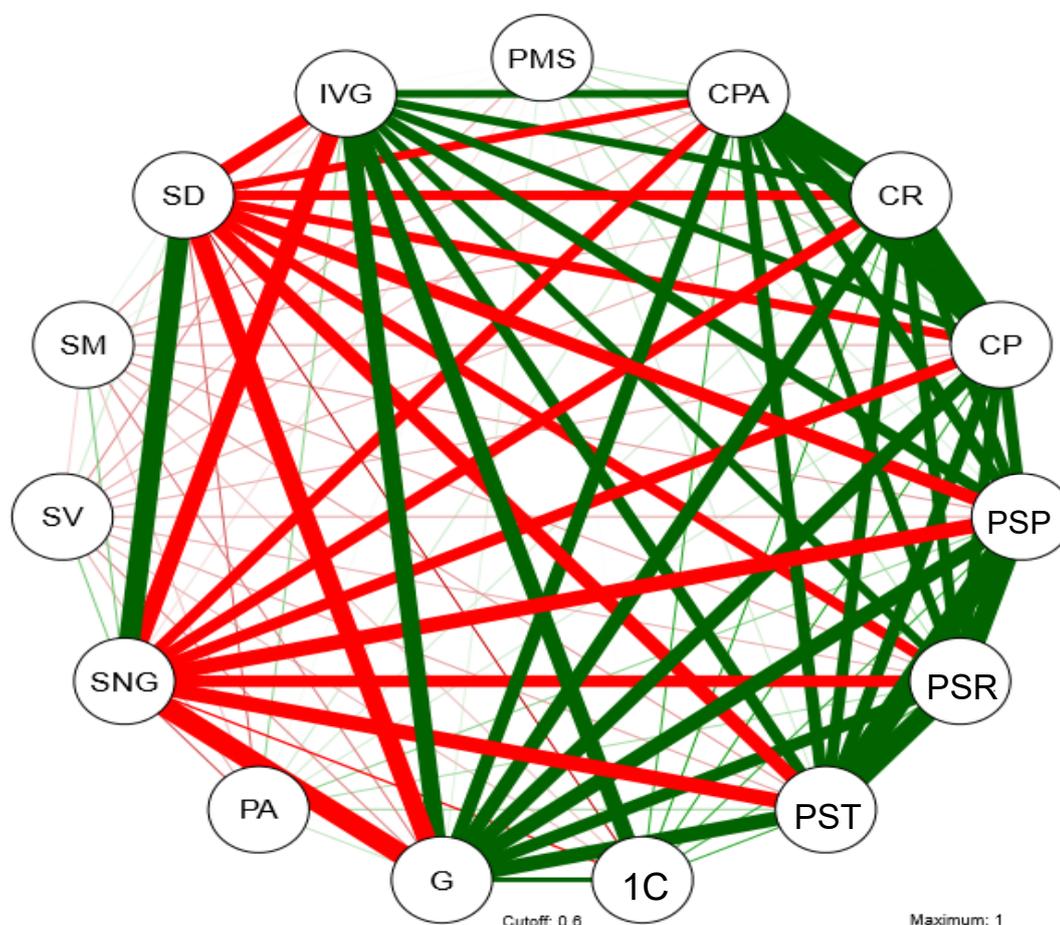


Figura 3. Rede de correlações de 15 características de sementes de genótipos elite de *C. papaya*, provenientes da Coleção de Germoplasma UENF/ Caliman S/A. CPA, Comprimento da Parte Aérea da plântula (cm); CR, Comprimento da Raiz da plântula (cm); CP, Comprimento da Plântula (cm); PSPA, Peso Seco da parte aérea (g); PSR, Peso Seco da Raiz (g); PST, Peso Seco Total (g); 1C, Primeira Contagem (%); G, Germinação (%); PA, Plântulas Anormais (%); SNG, Semente Não Germinada (%); SV, Sementes Vazias (%); SM, Sementes Mortas (%); SD, Sementes Dormentes (%) e IVG, Índice de Velocidade de Germinação. As correlações negativas e positivas são representadas, respectivamente, pelas cores vermelha e verde do traço. A espessura do traço indica o nível de correlação, quanto mais espesso mais forte é a correlação.

Ao analisar a rede de correlações é possível observar que, dentre as sementes não germinadas (Vazias, Mortas e Dormentes), as dormentes foram as que apresentaram alta correlação negativa com a germinação. Portanto, dentre as três características de sementes que compõem a porcentagem de sementes não germinadas, a porcentagem de sementes dormentes é a que exerce influência direta na germinação e no índice de velocidade de germinação.

No genótipo UCLA08-097, durante a avaliação da germinação de sementes, foi observada a presença de poliembrião (Figura 4). Sementes poliploides são caracterizadas pela presença de duas plântulas (ou mais) idênticas, germinadas a partir de uma única semente.



Figura 4. Plântulas do UCLA08-097 com desenvolvimento normal (A) e com poliploidia (B).

No UCLA08-097, as plântulas formadas possuem sistema radicular e parte aérea bem desenvolvida. Em mamoeiro, até o momento, não existiam relatos da presença de poliembrião em sementes. A poliembrião é amplamente estudada e caracterizada em citrus (Duarte et al., 2013) e tem grande interesse e importância para o melhoramento destas espécies (Carvalho e Nakagawa, 2012).

DISCUSSÃO

As sementes dos genótipos *Candy*, UCLD08-05II5, Kapoho polpa amarela, Califlora 209, UCLA08-012, UCLA08-080, UCLA08-092 e Vitória, possuem PMS médio de 19,13 g e média de 41,63% de germinação. Martins et al. 2005, ao avaliarem a influência do peso de sementes de mamoeiro do tipo Formosa, relatam que sementes pesadas (19,23 g) possuem maior germinação, quando comparadas às classificadas como intermediárias (17,19 g).

No presente estudo, as sementes do Vitória (21,78 g) e do UCLD08-05II5 (21,43 g) possuem germinação de 0,00 e 71%, respectivamente. Enquanto os genótipos UCLA08-088 (15,03 g) e o *Candy* Recíproco (12,86g) possuem 93,5 e 92,5% de germinação, respectivamente. Portanto, para os genótipos avaliados, o peso das sementes não exerceu influência direta na capacidade de germinação. A rede de correlações (Figura 1) em que é observado que o PMS não possui correlação com a germinação de sementes, ou qualquer outra característica de semente analisada, atesta que o peso não exerceu influência na germinação (Figura 1). Carvalho e Nakagawa (2012) relatam que sementes com maior peso e tamanho são potencialmente mais vigorosas, contudo, em determinadas situações estas podem não ser as mais vigorosas. A exemplo disto está o conteúdo de compostos fenólicos presentes na esclerotesta, a época de colheita e a presença ou ausência da sarcotesta (Tokuhisa et al., 2007, 2008), que exercem grande influência na germinação de *C. papaya*, independentemente do tamanho e peso das sementes.

Dentre os 44 genótipos avaliados, 25% possuem germinação acima de 60%, sendo eles: *Sunrise* Solo SS-72/12, *Candy* Recíproco, UCLD08-05II5, UCLD08-29II5, Tailandia, STZ 03 pecíolo curto, UCLA08-012, UCLA08-088, UCLA08-092, UCLA08-097 e THB, com médias de 6,73 e 11,32% de plântulas anormais e sementes não germinadas, respectivamente, e 3,44 de IVG. Dos 11,32% de SNG, 4,40; 2,41 e 4,6% correspondem às sementes vazias, mortas e dormentes, respectivamente. Por sua vez, genótipos que possuem germinação entre 30 e 59%, corresponderam a 18% dos genótipos avaliados, com média de 14,81 e 36,69% de plântulas anormais e SNG, respectivamente, e 2,07 de IVG. Destas, 4,06; 10,31 e 22,31% das SNG correspondem às sementes vazias, mortas e dormentes,

respectivamente. Por fim, sementes com germinação abaixo de 29% correspondem a 57% dos genótipos analisados, com média de 5,18 e 91,11% de plântulas anormais e SNG, respectivamente, e 0,29 de IVG. Destas, 9,76; 10,66 e 70,75% das SNG foram classificadas como vazias, mortas e dormentes, nesta ordem.

Neste contexto, é possível observar que a redução da germinação e, conseqüentemente, do IVG em mamoeiro, está associada ao aumento da porcentagem de sementes dormentes, com a qual possui correlação negativa forte (IVG x SD, -0,8; G x SD, -0,9). Portanto, a baixa germinação, em média 31,35%, observada nos 44 genótipos elite de mamoeiro, ocorre em função da alta predominância de dormência. A exemplo disto estão os genótipos Sunrise Solo (SS-72/12), Tailandia, UCLA08-088 e o THB que possuem menos de 1% de sementes dormentes e estão entre aqueles com maior germinação e demonstraram potencial fisiológico máximo. Em contrapartida, o *Sunrise solo* (Pro Tainung) e Cimarrom não foram capazes de germinar por possuírem mais de 90% das suas sementes não germinadas classificadas como dormentes.

Há controvérsias a respeito dos fatores que controlam a germinação de mamoeiro. Autores relatam que sementes recém colhidas estão com potencial fisiológico máximo (Singh e Sudhakar Rao, 2011), enquanto outros relatam ser necessário intervalo de tempo entre a colheita e semeio, para que estas atinjam seu potencial fisiológico máximo (Aroucha et al. 2005; Dias et al. 2015). Contudo, Carlesso et al. (2009) relatam que a secagem pode promover o aumento imediato ou prolongar a viabilidade quando armazenadas. A baixa germinação de diferentes genótipos de *C. papaya*, evidenciada por diferentes pesquisas, é atribuída à presença de dormência nas sementes. No entanto, os autores não avaliaram a viabilidade das sementes não germinadas, portanto, a baixa germinação observada pode ser decorrente da presença de sementes vazias, dormentes ou mortas.

Todavia, a dormência pós-colheita em sementes de mamoeiro, está relacionada às diferentes concentrações de compostos fenólicos existentes na sarcotesta e esclerotesta que, por sua vez, têm sua concentração influenciada pelas diferentes épocas do ano (Tokuhisa et al., 2007; Melo e Seleguini, 2013; Dias et al., 2015). Assim, a presença de compostos fenólicos, como o ácido p-hidroxibenzoico, em maiores concentrações, acaba inibindo o processo germinativo das sementes de mamoeiro (Chow, 1991), pois os fenóis podem atuar como

ativadores ou inibidores do sistema enzimático, de acordo com o tipo e concentração (Xu et al., 2019)

Por sua vez, a variação nas condições climáticas na época de formação dos frutos, pode ter contribuído para a alteração na síntese de compostos fenólicos nas sementes dos genótipos avaliados, uma vez que, o estresse seja de origem biótica ou abiótica, é um dos principais fatores responsáveis pela alteração na síntese de compostos secundários em plantas, os quais estão relacionados ao mecanismo de defesa vegetal (Xu et al., 2019; Corso et al., 2020), contribuindo para redução na germinação.

Embora a resposta germinativa das sementes seja influenciada pelo ambiente, existem limites nestas variações, e estes limites são controlados por fatores genéticos (Carvalho e Nakagawa, 2012). Portanto, é possível que exista diferenças nas concentrações de fenóis presentes na estrutura da semente dos 44 genótipos avaliados, que afetaram a germinação de *C. papaya* de maneira distinta. Tendo em vista que as sementes avaliadas foram submetidas às mesmas condições de colheita, repouso, remoção da esclerotesta, secagem e armazenamento e ao mesmo fotoperíodo e temperatura de germinação.

Por fim, ao avaliar a qualidade fisiológica com o uso de 15 características em 44 genótipos de mamoeiro, foi possível evidenciar a alta variabilidade existente entre os diferentes genótipos nas diferentes características de sementes. Os genótipos *Candy Recíproco* e *UCLA08-088* possuem sementes mais vigorosas quando comparadas aos demais genótipos. Contudo, vale ressaltar que a baixa porcentagem de germinação está correlacionada à alta porcentagem de sementes dormentes. Portanto, se faz necessária a identificação das causas e métodos de superação da dormência, a fim de explorar o potencial fisiológico destas sementes.

CONCLUSÃO

A germinação é altamente correlacionada à porcentagem de sementes não germinadas, IVG e características de desenvolvimento das plântulas.

O peso das sementes não influenciou no potencial germinativo dos 44 genótipos de mamoeiro.

A baixa porcentagem de germinação em *C. papaya* é atribuída à alta porcentagem de sementes dormentes.

Os genótipos *Candy* Recíproco e UCLA08-088, com mais de 90% de germinação, possuem sementes com alta qualidade fisiológica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvares, C.A., Stape, L.J., Sentelhas, P.C., Gonçalves, J.L.M.V., Sparovek, G. (2013) Koppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologists Zeitschrift*, 22(6):711–728.
- Aroucha, E.M.M., Silva, R.F., Oliveira, J.G., Viana, A.P., Gonzaga, M.P. (2005) Época de colheita e período de repouso dos frutos de mamão (*Carica papaya* L.) cv Golden na qualidade fisiológica das sementes. *Ciência Rural*, 35(3):537-543.
- Brasil (2009) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Regras para Análise de Sementes. MAPA/ACS, 395p.
- Bhering, L.L. (2017) Rbio: A tool for biometric and statistical analysis using the R platform. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 17(2):187–190.
- Carlesso, V.D.O., Berbert, P.A., Silva, R.F., Thiébaud, J.T.L., Oliveira, M.T.R. (2009) Germinação e vigor de sementes de mamão (*Carica papaya* L.) cv. Golden secadas em altas temperaturas. *Revista Brasileira de Sementes*, 31(2):228–235.
- Carvalho, S.M.C., Torres, S.B., Sousa, E.C., Sousa, D.M.M., Pereira, K.T.O., Paiva, E.P., Matias, J.R., Santos, B.R.V. (2018) Viability of *Carica papaya* L. Seeds by the tetrazolium test. *Journal of Agricultural Science*, 10(2):335-340.

- Carvalho, N.M., Nakagawa, J. (2012) *Sementes: Ciência, tecnologia e produção*. 5. ed. Jaboticabal. Funep, 590p.
- Chow, Y.J. (1991) *p*-Hydroxybenzoic acid as the major phenolic germination inhibitor of papaya seed. *Seed Science and Technology*, 19:167–174.
- Corso, M., Perreau, F., Mouille, G., Lepiniec, L. (2020) Plant science specialized phenolic compounds in seeds: structures, functions, and regulations. *Plant Science* 296:110471.
- Cruz, C.D. (2016) Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. *Acta Scientiarum - Agronomy*, 38(4):547–552.
- Dias, M.A., Dias, D.C.F.S., Lima e Borges, E.E., Dias, L.A.S. (2015) Qualidade e compostos fenólicos em sementes de mamão alterados pela colheita e maturação dos frutos. *Ciência Rural*, 45(4):737-743.
- Duarte, F.E.V.O., Barros, D.R., Girardi, E.A., Soares Filho, W.S., Passos, O.S. (2013) Polyembryony and morphological seed traits in citrus rootstocks. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35(1):246-254.
- Krzyzanowski, F.C., Vieira, R.D., França-Neto, J.B., Marcos-Filho, J. (2020) Testes de vigor: Importância e utilização. In: Vigor de sementes: Conceitos e Testes. ABRATES, Londrina, p 17–77.
- Maguire J.D., (1962) Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2:176–177.
- MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Instrução normativa nº 42, de 17 de setembro de 2019. *Normas para a Produção e a Comercialização de Sementes e Mudanças de Espécies Olerícolas, Condimentares, Medicinais e Aromáticas*. Available at: <https://sidago.agrodefesa.gov.br/site/adicionaispropios/protocolo/arquivos/1088820.pdf>. Access in: JAN.2023.
- Melo, A.P.C., Seleguini, A. (2013) Estádio de maturação de frutos e remoção física da sarcotesta na produção de mudas de mamão. *Comunicata Scientiae*, 4(1):20-25.
- Melo, A.P.C., Seleguini, A., Pereira, J., Neto, A.R., Wisintainer, C., Neves, R.G., Camilo, Y.M.V. (2015) Maturação de frutos e tratamento pré-germinativo na produção de mudas de mamão. *Revista de Ciências Agrárias*, 38(3):330-337.
- SAS Institute (2009) *Statistical Analysis System: User's Guide*. SAS, Cary, 5140p.

- Singh, S.P., Sudhakar Rao, D.V. (2011) *Papaya (Carica papaya L.)*. In: Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits. Elsevier, p 86-126e
- Tokuhisa, D., Dias, D.C.F.S., Alvarenga, E.M., Hilst, P.C., Demuner, A.J. (2007) Compostos fenólicos inibidores da germinação em sementes de mamão (*Carica papaya L.*). *Revista Brasileira de Sementes*, 29(3):180–188.
- Tokuhisa, D., Dias, D.C.F.S., Alvarenga, E.M., Dias, L.A.S., Marin, S.L.D. (2008) Época de colheita dos frutos e ocorrência de dormência em sementes de mamão (*Carica papaya L.*). *Revista Brasileira de Sementes*, 30(2):75-80.
- Vale, L. Sérgio R., Martins, P.H.M., Félix, M.J.D., Winder, A.R.S., Marques, M.L.S., Assis, E. (2020) Métodos de remoção da sarcotesta para superação de dormência em sementes de mamão. *Brazilian Journal of Development*, 6(6):41161–41174.
- Xu, M., Rao, J., Chen, B. (2019) Phenolic compounds in germinated cereal and pulse seeds: Classification, transformation, and metabolic process. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(5):740-759.

AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS DE *C. papaya* COM USO DE DESCRITORES DE SEMENTES E ESTIMATIVA DE PARÂMETROS GENÉTICOS

RESUMO

A propagação comercial de mamoeiro ocorre via sementes e tem como característica a germinação lenta e desuniforme. Tendo em vista que a germinação e o vigor são controlados por fatores ambientais e genéticos, a determinação da divergência e dos parâmetros genéticos em sementes de *C. papaya* fornece subsídios essenciais para a seleção de características desejáveis. Objetivou-se estimar os parâmetros genéticos em genótipos de mamoeiro, a fim de obter informações a respeito da herança de caracteres que auxiliem na obtenção de genótipos com alta qualidade de sementes. Para tal, foram estimados os componentes da Variância Fenotípica (variância ambiental e genotípica), herdabilidade, índice de variação e as variáveis canônicas para 14 características físicas, fisiológicas e fenotípicas em sementes de 44 genótipos de mamoeiro. A partir da estimativa dos parâmetros genéticos, observou-se que as 14 características de sementes, dentre elas a germinação, possuem alta herdabilidade e índice de variação acima da unidade. As variáveis canônicas agruparam os genótipos em dois grupos, cada um contendo 22 genótipos, e discriminaram melhor as diferenças relacionadas à qualidade das sementes, quando comparados com o método UPGMA. Portanto, os resultados obtidos indicam que há possibilidade de ganhos no processo de seleção genótipos de *C. papaya*, visando à melhoria na qualidade de sementes.

Palavras-chave: divergência genética, qualidade de sementes, vigor, mamoeiro

ABSTRACT

The commercial propagation of papaya occurs via seeds and is characterized by slow and uneven germination. Considering that germination and vigor are controlled by environmental and genetic factors, the determination of divergence and genetic parameters in *C. papaya* seeds provides essential subsistence for the selection of desirable traits. The objective was to estimate the genetic parameters in papaya seeds, in order to obtain information about the inheritance of characters that help in obtaining genotypes with high seed quality. For this purpose, the components of Phenotypic Variance (Environmental and Genotypic Variance), Heritability, Variation Index and canonical variables were estimated for 14 physical, physiological and phenotypic characteristics in seeds of 44 papaya genotypes. From the estimation of the genetic parameters, it was observed that the 14 seed characteristics, among them germination, have high heritability and Variation Index above unity. The canonical variables grouped the genotypes into two groups, each containing 22 genotypes and better discriminated the differences related to seed quality, when compared with the UPGMA method. Therefore, the results obtained indicate that there is a possibility of gains in the process of selection of *C. papaya* genotypes, aiming at improving the quality of seeds.

Keywords: genetic diversity, seed quality, vigor

INTRODUÇÃO

A propagação do mamoeiro é essencialmente realizada por via seminífera, e fatores genéticos e ambientais exercem influência na germinação, tornando a germinação lenta e desuniforme. Neste sentido, o entendimento a respeito da natureza (genética ou ambiental) das variações observadas em caracteres de sementes é fundamental na escolha dos métodos de melhoramento.

O uso de sementes com alta qualidade fisiológica tem como vantagem a alta porcentagem e velocidade de germinação, assim como maior produção de plântulas vigorosas e, por consequência, mudas de alto vigor, tornando-as menos suscetíveis às condições adversas (Carvalho e Nakagawa, 2012; Krzyzanowski et al., 2020). Nesta perspectiva, a seleção de genótipos que produzam sementes de alta qualidade fisiológica é fator primordial para o estabelecimento da cultura a campo.

Tendo em vista que características como vigor, germinação e emergência de plântulas são controladas geneticamente (Carvalho e Nakagawa, 2012), e que a melhoria de determinada característica é dependente da compreensão da herança dos caracteres e da variabilidade genética (Borém e Miranda, 2013). Percebe-se que o conhecimento a respeito dos parâmetros genéticos e da divergência genética, que serve como subsídio para a escolha do método de melhoramento mais adequado (Bespalhok et al., 2016), é primordial para a seleção e obtenção de genótipos promissores.

Estudos da diversidade genética, com base em descritores físicos e fisiológicos de sementes, vêm sendo realizados em diferentes espécies como *Zea mays* (Nerling et al., 2013), *Glycine max* (Santos et al., 2012), *Passiflora* spp. (Ferreira et al., 2018; Torres et al., 2019), em que houve sucesso na identificação de genitores divergentes e promissores para a melhoria da qualidade fisiológica de sementes.

No mamoeiro, estudos relacionados à estimativa de parâmetros genéticos são descritos para diferentes genótipos e diferentes finalidades, dentre elas: a seleção de características morfoagronômicas (Oliveira et al., 2012; Silva et al., 2017) e resistência às doenças (Moraes et al. 2019). Estes estudos demonstram

alto potencial de uso em processos de seleção em programas de melhoramento, devido às características como alta variabilidade e herdabilidade.

Contudo, estudos que envolvem a avaliação da variabilidade e parâmetros genéticos para características de sementes de *C. papaya* são escassos. Cardoso et al. (2009) e Macedo et al. (2013), ao avaliarem acessos de mamoeiro, relatam que as estimativas dos parâmetros genéticos baseados em características fisiológicas das sementes sugerem que há possibilidade de ganhos expressivos no processo de seleção. Dias et al. (2011) ressaltam que a alta herdabilidade estimada para a maioria dos descritores avaliados indica o potencial de uso na discriminação de genótipos, assim como no registro e proteção de cultivares.

Haja vista a importância da obtenção e uso de sementes de qualidade, a avaliação da divergência e das relações genéticas para características de sementes é necessária para dar suporte às estratégias de seleção para melhoria da qualidade fisiológica de sementes. Neste sentido, o estudo propõe-se a determinar a divergência e os parâmetros genéticos com base em características físicas, fisiológicas e fenotípicas em genótipos de *C. papaya*, a fim de obter informações a respeito da herança de caracteres, fornecendo assim, subsídios que auxiliem futuros programas de melhoramento vegetal que tenham como objetivo a melhoria na qualidade das sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

a) *Obtenção de Sementes*

Foram selecionados 44 genótipos elite de mamoeiro da Coleção de Germiplasma pertencente à UENF/Caliman Agrícola S/A, localizada entre os paralelos 19°06' e 19°18' de latitude Sul e os meridianos 39°45' de longitude Oeste, no município de Linhares, Espírito Santo. O clima da região é do tipo Aw, conforme a classificação de Köppen, com chuvas de verão e inverno seco e 45 m de altitude (Alvares et al., 2013). Foram obtidas sementes a partir da autofecundação, quando linhagem, ou cruzamentos controlados, quando híbridos (Tabela 1), pertencentes aos grupos Formosa, Intermediário e Solo.

Após a coleta, os frutos foram conduzidos ao Setor de Produção e Tecnologia de Sementes do Laboratório de Fitotecnia (LFIT), do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), onde permaneceram em repouso em temperatura ambiente até atingirem o estágio V de maturação, quando se deu início ao processo de remoção da sarcotesta por fricção manual das sementes sobre peneira de malha de arame de aço (Vale et al., 2020). Após a remoção da sarcotesta, as sementes foram postas para secar à sombra até atingirem 12% de teor de água.

b) Características avaliadas

Fenotipagem

Foram utilizados os descritores fenotípicos de sementes: C29 (Predominância do Verde), C23 (Predominância do Preto) e G37 (Maior Perímetro), obtidos via fenotipagem digital, com uso do *software* de análise de imagens *GroundEye*[®] (TBIT, 2014). Estes descritores foram selecionados por controlarem 80% da diversidade fenotípica em sementes de *C. papaya*.

Peso de mil sementes

Determinado pela contagem, ao acaso, de oito subamostras de 100 sementes, as quais foram pesadas em balança de precisão (0,0001 g). Os valores são expressos em gramas, com uma casa decimal, conforme estabelecido pelas Regras para Análise de Sementes (RAS) (Brasil, 2009).

Tabela 1. Genótipos elite utilizados na avaliação de características físicas, fisiológicas e fenotípicas em sementes de *C. papaya*, provenientes da Coleção de Germoplasma, UENF/ Caliman S/A

Genótipo	Grupo	Categoria
<i>Sunrise Solo</i> (SS-72/12)	Solo	Linhagem
<i>Candy</i>	Formosa	Híbrido
Aliança	Solo	Linhagem
<i>Candy</i> Recíproco	Formosa	Híbrido
UCLD08-05II5	Formosa	Linhagem
UCLD08-08II5	Formosa	Linhagem
UCLD08-29II5	Formosa	Linhagem
Caliman M5	Solo	Linhagem
<i>Sunrise Solo</i> 783	Solo	Linhagem
Costa Rica	Intermediário	Linhagem
Triwan ET	Intermediário	Linhagem
Grampola	Solo	Linhagem
<i>Sunrise Solo</i>	Solo	Linhagem
Caliman AM	Solo	Linhagem
Caliman SG	Solo	Linhagem
Kapoho polpa amarela	Solo	Linhagem
Baixinho de Sta Amalha (BSA)	Solo	Linhagem
<i>Sunrise Solo</i> TJ	Solo	Linhagem
Tailandia	Formosa	Linhagem
São Mateus	Intermediário	Linhagem
Kapoho polpa vermelha	Solo	Linhagem
<i>Sunrise solo</i> (Pro Tainung)	Solo	Linhagem
Baixinho Super	Intermediário	Linhagem
M-4	Solo	Linhagem
Califlora 209	Formosa	Linhagem
<i>Golden</i> tipo formosa	Solo	Linhagem
STZ 03 pecíolo curto	Solo	Linhagem
STA Helena III TRA 02A PLT 08	Formosa	Linhagem
STA Helena III TRA 14A PLT 05	Formosa	Linhagem
Papaya 46 claro	Solo	Linhagem
RN. Selecionado	Solo	Linhagem
Criola de Costa Rica	Formosa	Linhagem
B5 – Geraldo	Solo	Linhagem
Cimarron	Solo	Linhagem
JS12	Formosa	Linhagem
UCLA08-012	Formosa	Linhagem
UCLA08-013	Formosa	Linhagem
UCLA08-080	Formosa	Linhagem
UCLA08-088	Formosa	Linhagem
UCLA08-092	Formosa	Linhagem
UCLA08-097	Formosa	Linhagem
UCLA08-101	Formosa	Linhagem
THB	Solo	Linhagem
Vitória	Formosa	Híbrido

Teste de Germinação

Realizado de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009). Para tanto, de cada genótipo proveniente da Coleção de Germoplasma, foram retiradas quatro subamostras de 50 sementes, que foram acondicionadas em germinadores do tipo BOD, regulados para manter a temperatura alternada de 20-30 °C (16h de escuro e 8h de luz, respectivamente). A avaliação das plântulas foi realizada 30 dias após a instalação do teste, e os resultados obtidos foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

Índice de Velocidade de Germinação

Realizado em concomitância ao teste de germinação, conforme a metodologia descrita pela RAS (Brasil, 2009), considerando-se germinada a semente que rompe o tegumento e emite radícula com pelo menos 2 mm de comprimento. As avaliações foram realizadas a cada dois dias, à mesma hora, a partir do dia em que foi constatada a germinação da primeira semente. O procedimento foi repetido até completar os 30 dias. O cálculo do índice de velocidade de germinação foi realizado de acordo com Maguire (1962).

Desempenho de plântulas

Realizado em concomitância ao teste de germinação, as plântulas normais foram avaliadas com o auxílio de régua graduada. Foi mensurado o comprimento da parte aérea (comprimento do colo ao ápice da plântula - cm), da raiz (comprimento do colo da plântula até a extremidade distal da raiz - cm) e altura da planta (soma do comprimento da parte aérea e da raiz da plântula - cm) (Krzyzanowski et al., 2020).

Após mensuração, as plântulas foram seccionadas em parte aérea e raiz para a determinação do peso seco. O peso seco foi estimado pelo método gravimétrico, em que as amostras das plântulas foram acondicionadas em sacos de papel e postas para secar em estufa a 70 °C por 72 horas. Após secagem, estas foram resfriadas (dissecador em temperatura ambiente) e pesadas (balança de

precisão) para determinação da matéria seca da parte aérea de raiz e total (g) (Krzyzanowski et al., 2020).

Delineamento Experimental

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com 44 tratamentos (genótipos) e quatro repetições, compostas por 50 sementes. Os dados foram interpretados estatisticamente por meio de análise de variância. Para o estudo da diversidade genética, foi estimada a distância generalizada de Mahalanobis e, em seguida, foram realizadas as análises de agrupamento e dispersão gráfica, utilizando-se como critério o método do UPGMA e as variáveis canônicas, respectivamente. Os dados foram analisados pelos programas Genes (Cruz, 2016) e os gráficos foram plotados com auxílio do programa SIGMA PLOT.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O resumo da análise de variância encontra-se na Tabela 2, no qual é possível observar diferenças significativas entre os genótipos, nos níveis de 1 e 5% de probabilidade, para as 14 características de sementes avaliadas.

A variância fenotípica (σ_f) é a variação encontrada em uma determinada espécie e pode ter duas origens: variação devido ao ambiente (σ_a) e variação devido às diferenças genéticas (σ_g). O conhecimento das magnitudes destas variâncias é primordial para o melhorista na escolha dos métodos de melhoramento, dos locais para condução dos testes de rendimento e do número de repetições (Borém e Miranda, 2013). Contudo, as variações ambientais podem se sobressair em relação às variações genéticas. Desta maneira, é oportuno a estimativa das variâncias ambientais e genéticas, para identificar características cuja variação se deve às causas genéticas ou ambientais (Tabela 3).

Tabela 2. Resultado da análise de variância de 14 características de sementes de 44 genótipos de *Carica papaya*, com as respectivas médias e coeficiente de variação (CV%)

Característica	Quadrado médio		Média	CV (%)
	Genótipos	Resíduo		
PMS (g)	24,48 *	0,11	15,11	2,16
CPA (cm)	8,85 *	0,11	1,27	25,80
CR (cm)	14,58 *	0,22	1,66	28,58
CP (cm)	45,10 *	0,52	2,92	24,76
PSPA (g)	1410,27 *	15,46	18,98	20,72
PSR (g)	120,49 *	1,85	5,09	27,01
PST (g)	2310,34 *	21,27	24,07	19,16
G (%)	4839,51 *	33,63	31,24	18,56
PA (%)	407,29 *	19,86	7,29	61,10
SNG (%)	5757,55 *	31,36	61,47	9,11
IVG	10,09 *	0,06	1,40	17,03
C29	90,78 *	0,31	21,73	2,58
C23	0,02 *	$3,0 \times 10^{-5}$	0,97	0,57
G37	0,11 *	$5,0 \times 10^{-4}$	2,03	1,12

* Significativo a 1%. PMS, peso de mil sementes; PMS, Peso de Mil Sementes; CPA, Comprimento da Parte Aérea da plântula; CR, Comprimento da Raiz da plântula; CP, Comprimento da Plântula; PSPA, Peso Seco da parte aérea; PSR, Peso Seco da raiz; PST, Peso Seco Total; G, Germinação; PA, Plântulas Anormais; SNG, Sementes Não Germinadas, IVG, Índice de Velocidade de Germinação, C29, Predominante: Canal verde; C23, Dominância preta e G37, Retângulos circunscritos: Maior perímetro.

Para as 14 características de sementes avaliadas, a σ_g foi consideravelmente superior a σ_a , no qual foi observado que, em média, menos de 1,5% da variância fenotípica total foi determinada pelo ambiente. A maior σ_a observada foi na porcentagem de plântulas anormais, com magnitude de 4,97 e corresponde à aproximadamente 5% da variância fenotípica, no entanto, é considerada baixa quando comparada à σ_g , responsável por 95% da variância fenotípica.

Cardoso et al. (2009) e Dias et al. (2011) observaram que, entre os componentes da variância para características de sementes de *C. papaya*, a variância genotípica foi maior que a variância ambiental. Isto posto, fica evidente que as características de sementes de *C. papaya* são majoritariamente controladas por fatores genéticos.

Tabela 3. Estimativas das variâncias Fenotípica (σ_f), Ambiental (σ_a) e Genotípica (σ_g), do Índice de Variação (lv), e da Herdabilidade (h^2 , %) para 14 características de sementes, em 44 genótipos de *Carica papaya*

Características	σ_f	σ_a	σ_g	h^2	lv
PMS (g)	6,12	0,03	6,09	99,56	7,56
CPA (cm)	2,21	0,03	2,18	98,79	4,52
CR (cm)	3,64	0,06	3,59	98,46	4,00
CP (cm)	11,27	0,13	11,14	98,84	4,61
PSPA (g)	352,57	3,87	348,70	98,90	4,75
PSR (g)	30,12	0,47	29,65	98,43	3,96
PST (g)	577,59	5,32	572,27	99,08	5,19
G (%)	1209,93	8,35	1201,58	99,31	6,00
PA (%)	101,82	4,97	96,86	95,12	2,21
SNG (%)	1439,39	7,84	1431,55	99,46	6,76
IVG	2,52	0,01	2,51	99,44	6,63
C29	22,70	0,08	22,62	99,65	8,48
C23	$3,9 \times 10^{-3}$	$8,0 \times 10^{-5}$	$3,9 \times 10^{-3}$	99,81	11,39
G37	0,03	0,00	0,03	99,54	7,34

PMS, Peso de Mil Sementes; CPA, Comprimento da Parte Aérea da plântula; CR, Comprimento da Raiz da plântula; CP, Comprimento da Plântula; PSPA, Peso Seco da parte aérea; PSR, Peso Seco da raiz; PST, Peso Seco Total; G, Germinação; PA, Plântulas Anormais; SNG, Sementes Não Germinadas, IVG, Índice de Velocidade de Germinação, C29, Predominante: Canal verde; C23, Dominância preta e G37, Retângulos circunscritos: Maior perímetro.

O lv (razão CV_g/CV_e) indica quanto a variação observada é devido às causas genéticas, sendo que, quanto mais próximo de 1,0 for esta relação, maior será a variação devido às causas genéticas. Portanto, por meio do lv , é possível identificar que as características de sementes PMS, CPA, CR, CP, PSPA, PSR, PST, G, PA, SNG, IVG, C29, C23 e G37 em *C. papaya*, se devem, em maior proporção, às causas genéticas do que às ambientais, com destaque para a característica fenotípica C23 (Predominância do preto), com lv de 11,39, sugerindo maior influência genética em relação às outras características de sementes.

Dias et al. (2011) observaram lv acima da unidade para o peso seco de sementes, enquanto Cardoso et al. (2009) obtiveram lv acima da unidade para as características de sementes G, PMS, IVG, PSP, em 30 genótipos de *C. papaya*, salientando, assim, a influência do componente genético na expressão do fenótipo de sementes de mamoeiro.

A herdabilidade, no sentido amplo, trata-se de um caractere numérico e varia entre 0 e 1. A herdabilidade é a proporção da variação genética em relação à variância fenotípica total, ou seja, quanto da variação observada é herdável. Portanto, herdabilidade igual a zero significa que a manifestação de determinado fenótipo ou a variabilidade fenotípica observada é totalmente regulada pelo ambiente. Em contrapartida, a herdabilidade igual a 1 (um) representa que a manifestação do fenótipo é controlada totalmente por fatores genéticos, portanto, não sofre influência do ambiente (Borém e Miranda, 2013). Desta maneira, é possível observar que a h^2 , nas diferentes características de sementes, foi superior a 95%, indicando que a contribuição genética é maior que a contribuição ambiental na expressão do fenótipo e reforça a hipótese de sucesso em programas de melhoramento genético para estas características. A alta herdabilidade e lv acima da unidade também foi descrito por Cardoso et al. (2009) e Dias et al. 2011 para as características de sementes. Portanto, havendo o interesse de programas de melhoramento, existe a possibilidade de ganhos no processo de seleção para os descritores de sementes avaliados.

O método de Singh (1981), utilizado para determinar a importância relativa dos descritores, indicou que dentre as 14 características de sementes avaliadas, a Germinação (%) foi responsável por 74,2% da variabilidade existente entre os 44 genótipos (Figura 1). Cardoso et al. (2009), por sua vez, observaram que o PMS foi a característica de maior importância relativa (37%), estimado pelo método de Singh (1981). No entanto, neste estudo, o PMS detém 1,3% de contribuição relativa. Este comportamento pode estar associado à moderada variação de peso de sementes entre os genótipos avaliados (10 g a 21 g), que contrasta com a alta variabilidade observada na germinação (0 a 93%) dos 44 genótipos de *Carica papaya*. Com isso, é plausível que o PMS possua baixa contribuição para a divergência fenotípica de sementes, enquanto a G possui alta contribuição relativa.

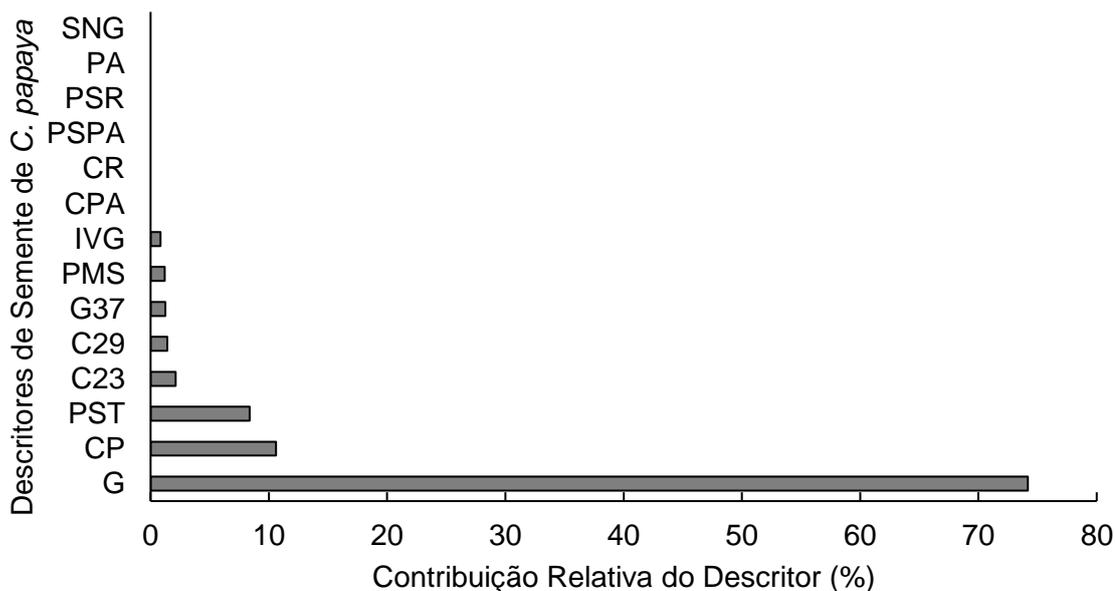


Figura 1. Contribuição relativa de 14 descritores de sementes, pelo método de Singh (1981), em 44 genótipos provenientes da Coleção de Germoplasma UENF/Caliman S/A. PMS, Peso de Mil Sementes; CPA, Comprimento da Parte Aérea da plântula; CR, Comprimento da Raiz da plântula; CP, Comprimento da Plântula; PSPA, Peso Seco da parte aérea; PSR, Peso Seco da raiz; PST, Peso Seco Total; G, Germinação; PA, Plântulas Anormais; SNG, Sementes Não Germinadas; IVG, Índice de Velocidade de Germinação; C29, Predominante: Canal verde; C23, Dominância preta e G37, Retângulos circunscritos: Maior perímetro.

As características de sementes CP, PST, C23, C29, G37, PMS e IVG possuem importância relativa de 10,6; 8,4; 2,1; 1,4; 1,3 e 1,2%, respectivamente, enquanto o CPA, CR, PSPA, PSR, PA e SNG possuem importância relativa igual a 0%, não contribuindo assim, com a diversidade observada em *C. papaya*.

A análise de agrupamento dos 44 genótipos, com base nas distâncias genéticas calculadas, utilizando-se 14 características relacionadas às sementes, encontra-se representada na Figura 2. Um corte foi realizado na distância média, possibilitando a formação de dois grupos de dissimilaridade. O grupo I é composto por um único genótipo, o Tailândia. O grupo II, por sua vez, comporta os demais 43 genótipos de *C. papaya*.

O genótipo Tailândia possui características fisiológicas similares aos demais genótipos, no entanto, este possui menor predominância do preto (C23), fator este que contribui com a elevada dissimilaridade dos demais genótipos. O genótipo com maior similaridade ao Tailândia foi o STA Helena III TRA 02A PLT 08, com distância de 6.183,15.

Os genótipos mais similares quanto às características de sementes são o *Sunrise Solo* (Pro Tainung) e o *Sunrise Solo*, com distância de 6.84, enquanto os mais dissimilares foram o Tailandia e o UCLD08-29II5. O *Candy* e seu Recíproco possuem distância genética de 782,71 e evidencia a dissimilaridade destes acessos. Portanto, é possível sugerir que o *Candy* e o *Candy* Recíproco possuem características de sementes distintas e, possivelmente, este comportamento é devido ao efeito materno.

De acordo com Macedo (2012), em se tratando do efeito materno, a semente híbrida terá seu fenótipo expresso pelo genótipo do seu genitor feminino, ou seja, o genótipo das sementes (híbridas) da geração F_1 só será notado nas sementes da geração seguinte (F_2). Com relação à planta híbrida, isso não ocorre, pois as plantas originadas dessas sementes híbridas F_1 apresentarão as características governadas pelos genes constituídos nessas sementes. Desse modo, a expressão fenotípica das sementes estará sempre uma geração atrasada. Portanto, o efeito materno manifestado nestes genótipos fez com que as sementes dos híbridos *Candy* e *Candy* Recíproco manifestassem características de sementes distintas.

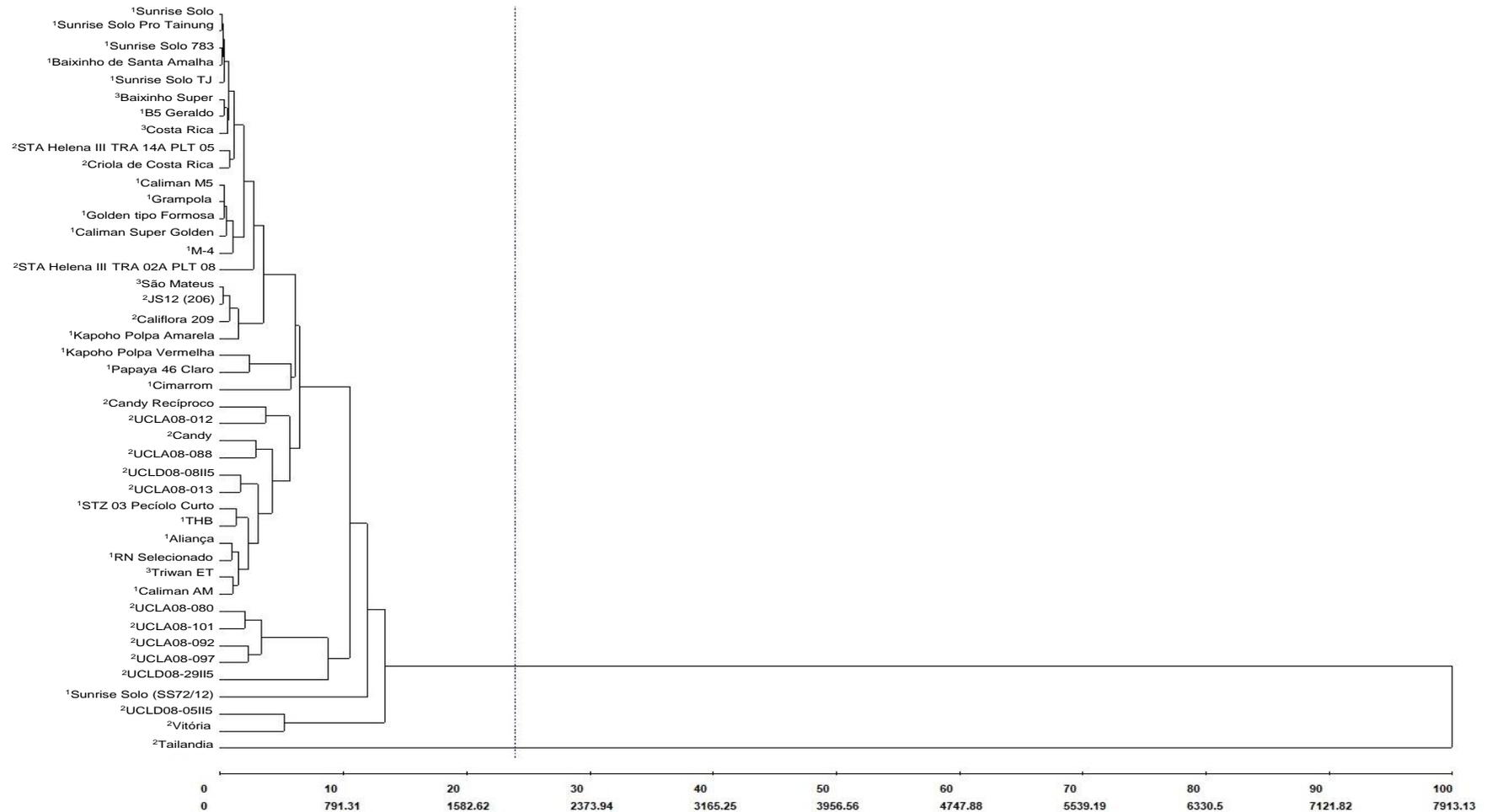


Figura 2. Dendrograma de dissimilaridade genética pelo método de agrupamento UPGMA, via descritores fenotípicos, físicos e fisiológicos de sementes baseado na análise de 44 genótipos de *Carica papaya* provenientes da Coleção de Germoplasma UENF/Caliman Agrícola S/A (coeficiente de correlação cofenética = 0,98). ¹Fruto tipo Solo, ²Fruto do tipo Formosa, ³Fruto tipo Intermediário.

As estimativas das variâncias associadas às variáveis canônicas relativas indicam que, a primeira, segunda e terceira variáveis canônicas respondem, respectivamente, por 43,36; 22,12; e 15,65% da variabilidade total (Figura 3). Portanto, a combinação explica mais de 80% da variação total, indicando que a sua utilização é satisfatória no estudo da divergência genética por meio da avaliação da dispersão gráfica dos escores.

Além do mais, o uso das variáveis canônicas discriminou melhor os genótipos quanto à qualidade fisiológica, quando comparadas à análise de agrupamento, com base nas distâncias genéticas calculadas. Portanto, as variáveis canônicas melhor estimaram a variabilidade genética para a qualidade de sementes, e o mesmo comportamento foi observado por Cardoso et al. (2009).

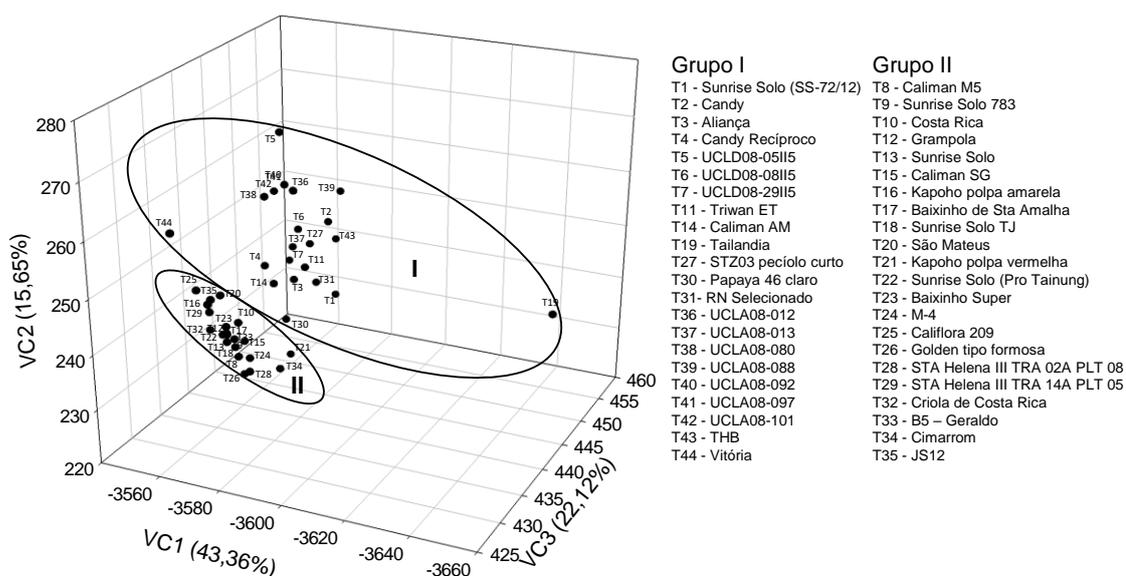


Figura 3. Dispersão gráfica dos genótipos de mamoeiro em relação aos eixos representativos das variáveis (VC1, VC2 e VC3) relativos às 14 características de sementes de *Carica papaya*.

Na Figura 3, além da dissimilaridade entre os genótipos evidenciada pela dispersão gráfica, procurou-se estabelecer os agrupamentos, no qual foram constituídos dois grupos. O Grupo I é composto por 22 genótipos, com características médias de: PMS (15,6 g), CPA (2,4 cm), CR (3,1 cm), CP (5,5 cm), PSPA (35,1 g), PSR (9,5 g), PST (44,6 g), G (60%), PA (12%), SNG (27%), IVG (2,7), C29 (21,4), C23 (1,0) e G37 (2,1). E o Grupo II é composto por 22 genótipos

com características médias de: PMS (14,6g), CPA (0,1 cm), CR (0,2 cm), CP (0,4 cm), PSPA (2,9g) PSR (0,6g), PST (3,5g), G (2%), PA (2%), SNG (96%), IVG (0,1), C29 (22,1), C23 (1,0) e G37 (2,0).

Os genótipos pertencentes ao Grupo I possuem melhor desempenho para as características relacionadas ao vigor, estimados pelo teste de germinação e da avaliação do desempenho de plântulas (CPA, CR, CP, PSPA, PSR, PST, G, PA, IVG). Em contrapartida, o Grupo II possui maior porcentagem de sementes não germinadas (SNG) e, por consequência, menor CPA, CR, CP, PSPA, PSR, PST, PA e IVG.

O contraste obtido entre os grupos formados evidencia a barreira existente na germinação de sementes de *C. papaya*. Barreiras, estas, impostas por fatores relacionados à composição química da semente (Santos et al., 2009), tamanho e posição da semente nos frutos (Dias et al., 2014), estágio de maturação (Melo et al., 2015), armazenamento (Berbert et al., 2008). Além destes fatores, o componente genético exerce influência nas características das sementes, influenciando positiva ou negativamente no processo germinativo (Krzyzanowski et al., 2020). Desta maneira, os 20 genótipos pertencentes ao Grupo II devem ser utilizados com cautela, ou inutilizados em futuros programas de melhoramento genético que visem à melhoria na qualidade das sementes. Todavia, a alta porcentagem de sementes não germinadas contidas no grupo II, pode indicar a presença de dormência destas sementes que podem ser induzidas pelo processo de secagem e condições climáticas, por exemplo (Dias et al., 2015; Souza et al., 2020; Vale et al., 2020).

Portanto, visando à melhoria da qualidade de sementes, os 22 genótipos pertencentes ao Grupo I são mais indicados para seleção e obtenção de novos materiais genéticos. A associação do elevado lv e da alta h^2 , observada para as 14 características de sementes, indica que existe a possibilidade de ganhos no processo de seleção para a qualidade de sementes.

CONCLUSÃO

As variáveis canônicas melhor discriminaram e agruparam os genótipos, quanto à qualidade de sementes.

A associação da alta herdabilidade no sentido amplo e o lv acima da unidade indicam que há possibilidade de ganhos no processo de seleção genótipos de *C. papaya*, visando à melhoria na qualidade de sementes, com o uso de técnicas menos elaboradas de melhoramento de plantas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvares, C.A., Stape, L.J., Sentelhas, P.C., Gonçalves, J.L.M.V., Sparovek, G. (2013) Koppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologists Zeitschrift*, 22(6):711–728.
- Berbert, P.A, Carlesso, V.D.O, Silva, R.F., Araujo, E.F., Thiébaud, J.T.L., Oliveira, M.T.R. (2008) Qualidade fisiológica de semente de mamão em função da secagem e do armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes*, 30(1):40–48.
- Bespalhok, F.J.C., Guerra, E.P., Oliveira, R. (2016) Noções de genética quantitativa. In: Melhoramento de plantas. p 15–18.
- Borém, A., Miranda, G.V. (2013) *Melhoramento de plantas*. 6.ed. Viçosa, MG. Editora UFV, 523p.
- Brasil (2009) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Regras para Análise de Sementes. MAPA/ACS, 395p.
- Cardoso, D.L., Silva, R.F., Pereira, M.G., Viana, A.P. (2009) Diversidade genética e parâmetros genéticos relacionados à qualidade fisiológica de sementes em germoplasma de mamoeiro. *Revista Ceres*, 56(5):572–579.
- Carvalho, N.M., Nakagawa, J. (2012) *Sementes: Ciência, tecnologia e produção*. 5. ed. Jaboticabal. Funep, 590p.
- Cruz, C.D. (2016) Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. *Acta Scientiarum - Agronomy*, 38(4):547–552.

- Dias, M.A., Dias, D.C.F.S., Lima e Borges, E.E., Dias, L.A.S. (2015) Qualidade e compostos fenólicos em sementes de mamão alterados pela colheita e maturação dos frutos. *Ciência Rural*, 45(4):737-743.
- Dias, M.A., Dias, D.C.F.S., Gomes-Junior, F.G., Cícero, S.M. (2014) Morphological changes and quality of papaya seeds as correlated to their location within the fruit and ripening stages. *IDESIA*, 32(1):27-34.
- Dias, N.L.P., Oliveira, E.J., Dantas, J.L.L. (2011) Avaliação de genótipos de mamoeiro com uso de descritores agrônômicos e estimação de parâmetros genéticos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46(11):1471–1479.
- Ferreira, A.F.N., Krause, W., Faleiro, A.C., Miranda, A., Acha, A. (2018) Seleção de descritores de sementes de maracujazeiro azedo utilizando fenotipagem digital. *Agrarian Academy*, 5(10):181–190.
- Krzyzanowski, F.C., Vieira, R.D., França-Neto, J.B., Marcos-Filho, J. (2020) Testes de vigor: Importância e utilização. In: Vigor de sementes: Conceitos e Testes. ABRATES, Londrina, p.17–77.
- Macedo, C.M.P. (2012) Avaliação de híbridos elites de mamão (*Carica papaya* L.) e seus cruzamentos recíprocos, quanto a qualidade fisiológica de sementes e o potencial agrônômico. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 94p.
- Macedo, C.M.P., Pereira, M.G., Cardoso, D.L., Silva, R.F. (2013) Evaluation of seed physiological quality of papaya elite hybrids, their reciprocal crosses and parents. *Journal of Seed Science*, 35(2):190–197.
- Maguire J.D., (1962) Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2:176–177.
- Melo, A.P.C., Seleguini, A, Pereira, J., Neto, A.R., Wisinteiner, C., Neves, R.G., Camilo, Y.M.V. (2015) Maturação de frutos e tratamento pré-germinativo na produção de mudas de mamão. *Revista de Ciências Agrárias*, 38(3):330-337.
- Moraes, R., Vivas, M., Vivas, J.M.S., et al (2019) Genetic parameters and performance of papaya genotypes to black spot resistance (*Asperisporium caricae*). *Australian Journal of Crop Science*, 13:649–655.
- Nerling, D., Coelho, C.M.M., Nodari, R.O. (2013) Genetic diversity for physiological quality of seeds from corn (*Zea mays* L.) intervarietal crossbreeds. *Journal of Seed Science*, 35(4):449–456.

- Oliveira, E.J., Fraife Filho, G.A., Freitas, J.P.X., Dantas, J.L.L., Resende, M.D.V. (2012) Plant selection in F2 segregating populations of papaya from commercial hybrids. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 12(2):191–198.
- Santos, S.A., Silva, R.F., Pereira, M.G., Alves, E., Machado, J.C., Borém, F.M., Guimarães, R.M., Marques, E.R. (2009) Estudos morfo-anatômicos de sementes de dois genótipos de mamão (*Carica papaya* L.). *Revista Brasileira de Sementes*, 31(2):116–122.
- Santos, E.R., Barros, H.B., Capone, A., Melo, A.V., Cella, A.J.S., Santos, W.R. (2012) Divergência genética entre genótipos de soja com base na qualidade de sementes. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 7(2):247–254.
- Silva, C.A., Nascimento, A.L., Ferreira, J.P., Schmildt, O., Malikouski, R.G., Alexandre, R.S., Ferreguetti, G.A., Schmildt, E.R. (2017) Genetic diversity among papaya accessions. *African Journal of Agricultural Research* 12(23):2041–2048.
- Singh, D. (1981) The relative importance of characters genetic divergence. *Indian Journal of Genetics & Plant Breeding*, 41:237–245.
- Souza, L.G.S., Andrade Neto, R.C., Silva, N.M., Uchôa, T.L. (2020) Avanços na propagação e cultivo do mamoeiro. *Applied Research & Agrotechnology*, 13, e5949.
- TBIT (2014) *Manual do usuário - SAS Sistema de Análise de Sementes*. Lavras, MG, 1ed. 250p.
- Torres, G.X., Viana, A.P., Vieira, H.D., Rodrigues, D.L., Santos, V.O. (2019) Contribution of seed traits to the genetic diversity of a segregating population of *passiflora* spp. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 79(2):288–295.
- Vale, L. Sérgio, R., Martins, P.H.M., Félix, M.J.D., Winder, A.R.S., Marques, M.L.S., Assis, E. (2020) Métodos de remoção da sarcotesta para superação de dormência em sementes de mamão. *Brazilian Journal of Development*, 6(6):41161–41174.

MOLECULAR APPROACH IN ELITE PARENTS OF PAPAYA WITH A FOCUS ON SEED PHYSIOLOGICAL QUALITY

ABSTRACT

Use of seeds with physiological quality is fundamental for the conservation and propagation of papaya. However, papaya seeds have erratic germination, which makes it difficult to obtain new plants and establish the crop. In order to overcome the barrier imposed by seed twinning, the study seeks to select genotypes with high seed quality, aiming to obtain genotypes with quality seeds. For this purpose, 44 papaya genotypes were analyzed by molecular characterization, via microsatellite markers, as well as the determination of seed physiological quality. The following were evaluated: Germination Speed Index, Percentage of Germination and Abnormal Seedlings. At the molecular level, observed and expected heterozygosity, number of alleles, information index, fixation index, inbreeding coefficient, genetic structure and genetic dissimilarity via UPGMA grouping were determined. Among the 44 genotypes, 10 have germination above 60% and have important characteristics for obtaining quality seeds and can be used to improve seed quality in papaya breeding programs. The dissimilarity analysis, via molecular markers, was able to show the dissimilarity between the accessions of the Solo and Formosa groups and to identify the most dissimilar genotypes. Finally, it was possible to identify 18 possible promising crosses that aim to improve the quality of *C. papaya* seeds.

Index terms: genetic structure, genetic variability, germplasm, microsatellites, papaya breeding, vigor

RESUMO

Uso de sementes com qualidade fisiológica é fundamental para conservação e propagação do mamoeiro. Contudo, estas possuem germinação errática, que dificulta a obtenção de novas plantas e o estabelecimento da cultura. A fim de superar a barreira imposta pela geminação de sementes, o estudo busca selecionar genótipos com alta qualidade de sementes, visando a obtenção de genótipos com sementes de qualidade. Foram analisados 44 genótipos por caracterização molecular, via marcadores microssatélites, assim como a determinação da qualidade fisiológica da semente. Foram avaliados: Índice de Velocidade de Germinação, Porcentagem de Germinação e Plântulas Anormais. A nível molecular determinou-se: Heterozigosidade Observada e Esperada, Número de Alelos, Índice de Informação, Índice de Fixação, Coeficiente de Endogamia, Estrutura genética e dissimilaridade genética via agrupamento UPGMA. Dentre os 44 genótipos, 10 possuem germinação acima de 60% e detém características importantes para obtenção de sementes de qualidade, podendo ser utilizados em programas de melhoramento do mamoeiro visando qualidade de sementes. A análise de dissimilaridade, via marcadores moleculares, foi capaz de evidenciar a dissimilaridade entre os acessos do grupo Solo e Formosa e identificar os genótipos mais dissimilares. Por fim, foi possível identificar 18 possíveis cruzamentos promissores à melhoria na qualidade de sementes de *C. papaya*.

Termos de indexação: estrutura genética, variabilidade genética, germoplasma, *papaya breeding*, vigor.

INTRODUCTION

Papaya is the third most consumed fruit in the world (Chávez-Pesqueira; Núñez-Farfán, 2017) and Brazil is the third largest producer of this crop worldwide, having produced around 43.4 t.ha⁻¹ in 2020 (FAO, 2022). Its propagation is achieved through seeds, which have high added value and whose price can exceed BRL 6,000.00 per 100 g, as is the case of hybrid Tainung 01. Some of the main obstacles faced by the species are its germination, deemed erratic, and its narrow genetic base.

To overcome these adversities, papaya breeding programs make use of molecular and classic breeding techniques such as backcrossing, recurrent and mass selection, biparental crossing, segregating populations, and generation advancement, which enable the development of new cultivars with different traits (Pereira et al., 2019a; Santa-Catarina et al., 2020). The Active Germplasm Bank (AGB) of papaya, maintained by the State University of North Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) in partnership with Caliman Agrícola S/A, is one of the main papaya AGBs in the country, containing over 300 accessions. These are widely used in the production of new hybrids and varieties with desirable traits such as improved fruit quality and disease resistance and/or tolerance (Pereira et al., 2019a, b, c; Pirovani et al., 2022), thus overcoming the barriers related to the narrow genetic base of this species.

With respect to seed germination in papaya, few advances have been made. Widely used methods to overcome the barriers imposed on seed germination have been adapted and used in the crop. These techniques are based on the partial or total removal of the sarcotesta and/or seed coat, scarification (physical and chemical) (Jesus et al., 2016; Vale et al., 2020) and the use of plant regulators such as gibberellins and auxins, which stimulate germination (Webster et al., 2016). However, the erratic germination of papaya seeds is often linked to a combination of physical (seed coat, seed size, and weight) (Martins et al., 2005), chemical (chemical composition of the seed structure) (Buides et al., 2017), and physiological (maturity and dormancy) factors intrinsic to the seeds (Dias et al., 2014; Melo et al., 2015), besides environmental factors (light, temperature, water, and oxygen) that influence the germination capacity of seeds from maturation to storage. In addition

to these factors, the genetic component influences the characteristics of the seed, positively or negatively affecting its germination process (Carvalho; Nakaguawa, 2012).

Genotypes of the AGB of UENF/Caliman S/A, in turn, have been widely evaluated in terms of morpho-agronomic traits aiming at the improvement of characteristics related to the fruit, plant structure, and disease resistance (Pirovani et al., 2020; Santa-Catarina et al., 2020). Despite the importance of seeds for obtaining new plants, there are no studies proposing to examine their physiological quality or the genetic diversity of papaya accessions with the aim of improving the physiological quality of seeds. Nonetheless, studies involving the evaluation of genetic parameters in papaya seeds, such as the experiment carried out by Santos et al. (2009), revealed high heritability for germination (81.2%), suggesting the possibility of improvements in seed quality, based on genetic analysis. Therefore, research at the molecular level of the accessions of the AGB is warranted so that the available genetic resources can be better utilized, taking advantage of this variability for the success of papaya breeding programs. In this sense, the present study proposes to undertake a molecular characterization of papaya genotypes and investigate the physiological quality of seeds and use this information to define possible hybrid crosses to obtain genotypes with high seed quality.

MATERIALS AND METHODS

a) Seed production

Forty-four elite genotypes of papaya were selected from the AGB of UENF/Caliman Agrícola S/A, located between the parallels of 19°06' and 19°18' S latitude and meridian of 39°45' W longitude, at an altitude of 45 m, in Linhares - ES, Brazil. According to the Köppen classification, the climate in the region is the Aw type, with rainy summers and dry winters (Alvares et al., 2013). Seeds were obtained by self-pollination, when lines; or crossing, when hybrids (Table 1), and belonged to the Formosa, Intermediate, and Solo groups.

After collection, the fruits were remained at rest, at room temperature (25°C), until reaching maturity stage V. Then, the sarcotesta was removed by hand-rubbing

the seeds over a steel wire mesh sieve under running water until its complete disappearance (Vale et al., 2020). Afterwards, the seeds were dried in the shade until reaching a water content of 12%.

b) Production of Genetic Material

To obtain the young leaves, the seeds were set to germinate in washed sand substrate in a greenhouse. After seedling emergence, ten seedlings of each genotype were transferred to tubes containing Basaplant® substrate. Sixty days after transplanting, a bulk of leaves was collected to compose a sample of plant material corresponding to each evaluated genotype. The leaf bulk was immediately placed in aluminum envelopes and kept refrigerated at -80 °C until DNA extraction. For genotypes JS12 and Sekati, due to the scarcity of seeds, plant material was obtained from young leaves of plants kept in the field at the AGB of UENF/Caliman Agrícola S/A, which were kept under refrigeration according to the methodology described for the other genotypes. Bulk sampling of leaves was adopted because the evaluated accessions were pure lines and hybrids obtained from these lines, so collecting samples of young leaves from different plants makes the evaluation more comprehensive.

c) Extraction of genomic DNA

Once refrigerated, the samples were macerated in liquid nitrogen using the CTAB method (Doyle; Doyle, 1990), with some modifications described next. After maceration, 800 µL of extraction buffer containing 5% CTAB, 5 M NaCl, 0.5 EDTA (pH 8.0), 1.0 M Tris-HCl (pH 8.0), 1% PVP, 0.2% β-mercaptoethanol, and 0.1 mg.mL⁻¹ proteinase K were added to the tubes. Subsequently, the tubes with the samples and buffer solution were placed in a dry bath at 65 °C for 40 min, with gentle homogenization performed every 10 min. After 40 min, the samples were cooled (room temperature) and centrifuged for 5 min at 14,000 rpm, 700 µL of the supernatant were transferred to new tubes, 700 µL of chloroform-isoamyl-alcohol (24:1) were added, and gentle homogenization was performed by inversion for 10 min until complete homogenization.

Table 1. Genotypes of *C. papaya* used for molecular analysis, from the Active Germplasm Bank (AGB) of papaya

Genotype	Group	Category
Caliman M5	Solo	Line
Sunrise Solo 783	Solo	Line
Costa Rica	Intermediate	Line
Triwan ET	Intermediate	Line
Grampola	Solo	Line
Sunrise Solo	Solo	Line
Caliman AM (amarelinho)	Solo	Line
Caliman SG (Super Golden)	Solo	Line
Sunrise Solo (SS-72/12)	Solo	Line
Kapoho polpa amarela	Solo	Line
Baixinho de Sta Amalha (BSA)	Solo	Line
Sunrise Solo TJ	Solo	Line
Tailandia	Formosa	Line
São Mateus	Intermediate	Line
Kapoho polpa vermelha	Solo	Line
Sunrise solo (Pro Tainung)	Solo	Line
Sekati	Formosa	Line
Baixinho Super	Intermediate	Line
M-4	Solo	Line
JS12 (206)	Formosa	Line
Califlora 209	Formosa	Line
Golden tipo Formosa	Solo	Line
STZ 03 Pecíolo curto	Solo	Line
STA Helena III TRA 02A PLT 08	Formosa	Line
STA Helena III TRA 14A PLT 05	Formosa	Line
Papaya 46 claro	Solo	Line
RN. Selecionado	Solo	Line
Crioula de Costa Rica	Formosa	Line
B5 – Geraldo	Solo	Line
Cimarron	Solo	Line
THB	Solo	Line
Aliança	Solo	Line
UCLD08-05II5	Formosa	Line
UCLD08-08II5	Formosa	Line
UCLD08-29II5	Formosa	Line
UCLA08-012	Formosa	Line
UCLA08-080	Formosa	Line
UCLA08-088	Formosa	Line
UCLA08-092	Formosa	Line
UCLA08-097	Formosa	Line
UCLA08-101	Formosa	Line
Candy	Formosa	Hybrid
Vitória	Formosa	Hybrid
Candy Reciprocal	Formosa	Hybrid

This step was repeated once more and then 550 μL of the supernatant and 550 μL of chloroform-isoamyl alcohol were added. This was followed by another centrifugation (5 min at 14,000 rpm) and transfer of 400 μL of the supernatant to new tubes to which 2/3 of the collected volume of ice-cold isopropanol were added, followed by gentle homogenization by inversion for 10 min and incubation for 30 min in a biofreezer at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. After incubation, centrifugation was performed again (14,000 rpm/10 min), generating the pellets (precipitates). After removing the supernatant, the pellets were subjected to triple washing; 300 μL of 70% ethanol were added, and the material was centrifuged for 10 min at 14,000 rpm (the process was repeated 2x), followed by the addition of 300 μL of 95% ethanol and centrifugation for 5 min at 14,000 rpm. After the triple wash, the supernatant was removed, and the pellets were dried in a dry bath for 30 min at $55\text{ }^{\circ}\text{C}$.

After drying, the pellets were re-suspended with a solution containing 100 μL of TE and 1 μL of RNase, incubated in a dry bath for 40 min at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, and finally stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

d) Quantification of genomic DNA

The concentrations of genomic DNA of the different papaya genotypes were estimated using agarose gel, by comparing the fluorescence of the samples. This procedure involved 1% agarose gel with 1X TAE buffer (Tris, sodium acetate, EDTA, pH 8.0), using the 100-bp lambda (λ) marker ($100\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) as a molecular weight marker (Invitrogen, USA) and staining by Gel Red[™] and Blue Juice solution (1:1). The images were captured by the Mini Bis Pro gel-documenting system (Bio-Imaging Systems). Based on the obtained images, the genomic DNA concentration was estimated in comparison with the 100-bp marker. Finally, DNA samples were diluted to a working concentration of $5\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ and stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

e) Polimerase chain reaction

Fifty-six pairs of microsatellite primers were selected (Table 2), designed, and described by Eustice et al. (2008). Microsatellite amplification reactions were performed in a final volume of 12 μL , containing 2 μL of DNA ($10\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$), 1.2 μL of 10x Taq buffer with $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$, 1.2 μL of MgCl_2 (25 mM), 1.0 μL of dNTPs (2 mM),

0.2 μL of Taq polymerase (0.5 U/ μL), 0.5 μL of each primer, and ultrapure water. The program used for the PCR reaction consisted of a cycle of four minutes at 94°C for the initial denaturation of the DNA, followed by 35 cycles of one minute at 94 °C for denaturation, one minute at Y °C for annealing of the primers, and two minutes at 72 °C for the extension of the primers, plus a later cycle of seven minutes at 72 °C for the final extension. Amplifications were performed in an Applied Biosystems/Veriti 96 Well Thermal Cycler, where “Y” corresponds to the specific annealing temperature for each primer. PCR reactions were performed for each primer in the population analysis.

f) Electrophoresis

The amplification products were diluted using 6 μL of amplified material for 18 μL of Buffer E from the DNF 900 kit. The samples were distributed in specific plates containing 96 wells for capillary electrophoresis in the Fragment Analyzer (AATI) instrument (Advanced Analytical), in which amplified fragments of 35 to 500 bp were separated with a resolution of approximately 2 bp, allowing a safe detection of differences in base pairs between the analyzed alleles. The DNA Ladder marker with variation from 35 to 400 bp was used during the runs to determine the size of the amplified fragments. The material contained in the plates was transported through the capillaries, where it was subjected to a run of 110 min at a current of 8 Kw. After this step, the images resulting from capillary electrophoresis were analyzed using PROsize 2.0 software.

g) Clusters analysis

Observations obtained by amplification of the SSR markers were converted into a numerical code for each allele per locus. This numerical matrix was developed by assigning values from 1 to the maximum number of alleles per locus, as described next: for a locus that has three alleles, homozygous forms (A1A1, A2A2, and A3A3) were represented by the numbers 11, 22, and 33; and heterozygotes (A1A2, A1A3, and A2A3) by 12, 13, and 23. From this numerical matrix, three indices were tested: the unweighted index, the weighted index, and the Smouse Peakall index (Peakall; Smouse, 2012). Based on the highest cophenetic correlation

coefficient, the weighted index was applied and analyses were carried out using GENES software (Cruz, 2013).

After the distance matrix was obtained, clustering was performed via dendrogram using the UPGMA method (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Mean), with the aid of Mega software v. 10. The distribution of the genetic variability of the 44 genotypes was estimated using Genalex software v. 6.5 (Peakall; Smouse 2012), based on the following parameters: number of alleles per polymorphic locus (NA), observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e), information index (I), and fixation index (f).

h) Analysis of the genetic structure of parent lines and hybrids

The method based on Bayesian grouping algorithms was adopted, using Structure software v. 2.3.4 (Pritchard et al., 2000). For this purpose, the admixture model and correlated allele frequencies were employed, with a burn-in period of 250,000, followed by an extension (Markov Chain Monte Carlo) of 750,000 repetitions. Twenty simulations were performed with k ranging from 1 to 5.

The Δk statistical test was performed using Structure Harvester software, following the criterion of Evanno et al. (2005). This criterion is based on the mean and standard deviation of the estimated $\ln P(D)$ in each of the 20 iterations per k . The Δk_i values were estimated by the following formula:

$$\Delta k_i = \text{ABS} (k_i + 1 - (2 \cdot k_i) + k_{i-1}) / \text{Standard deviation } K_i,$$

where “ i ” = number of simulated groups, ranging from 1 to 20; and “ABS” = module. The value of Δk is estimated for each k , and the one with the highest value is selected.

i) Seed physiological analyses

With the exception of genotypes JS12, Sekati, and Vitória (due to the absence of seeds), seeds obtained from selected *C. papaya* elite materials (Table 1) were subjected to physiological analysis. Accordingly, germination percentage (%G), Germination Speed Index (GSI), and the percentage of abnormal seedlings (%AS) were evaluated in the other accessions (41).

Seed germination

The germination test was performed according to the Rules for Seed Testing (*Rules of Seeds Analyses*, RAS) (BRASIL, 2009). Thirty days after sowing on paper substrate, germinated seeds and abnormal seedlings were counted and the results were expressed in percentage.

Germination Speed Index

This variable was evaluated simultaneously with the germination test, considering the seed that broke the seed coat and produced the radicle. The evaluations were carried out every two days, at the same time, from the day the first seed germinated, and the procedure was repeated until completion at 30 days. Germination Speed Index (GSI) was determined according to the methodology established by Maguire (1962).

j) Statistical analysis

The experiment was laid out in a completely randomized design with four replications, each of which was composed of 50 seeds and 41 treatments (genotypes). Data were subjected to analysis of variance at a 5% significance level and means were compared using the Scott-Knott test at 5% probability.

k) Prediction of crosses to improve seed quality

Genotypes with the better seed physiological quality were selected based on %G, %AS, and GSI. As a minimum selection criterion, 60% germination was considered, following the minimum standard established by the MAPA (MAPA, 2019) for the commercialization of papaya seeds. After pre-selection, possible crosses between the selected genotypes were established. The possible crosses were established between genotypes belonging to the Formosa × Formosa, Solo × Solo, and Formosa × Solo groups to obtain fruits of the Formosa, Solo, and Intermediate types, respectively.

The previously established crosses were evaluated for Dissimilarity (%D) and Number of common Alleles (NA), estimated by the UPGMA clustering method. Those with %D above 60% for Formosa × Formosa and Solo × Solo crosses, and

above 75% for Formosa × Solo crosses, were admitted as potential crosses for obtaining genotypes with high seed physiological quality.

RESULTS

Genetic diversity

Of the 58 pairs of primers evaluated, 52% showed polymorphism for the evaluated loci and were used in genetic diversity analysis (Table 1B). A total of 91 alleles were detected and the number per locus ranged from 2 to 5, with an average of 3 alleles per locus in the evaluated *C. papaya* accessions. Because they have five alleles, loci P3K7483A5 and P3K5113C0 have a higher information index (I) compared with the other evaluated loci (Table 2).

The information index provides an estimate of the discriminatory power of the locus, taking into account the number of alleles identified and the relative frequencies of these alleles. In this study, I ranged from 0.59 (ctg-4155 and P6K71CC) to 1.29 (P3K7483A5), averaging 0.80. According to the classification, I values can be grouped into three levels: highly informative ($I > 0.5$), moderately informative ($0.25 < I < 0.5$), and little informative ($I < 0.25$) (Botstein et al. 1980); therefore, those found here can be considered highly informative.

Expected heterozygosity (H_e) estimates varied between loci, ranging from 0.37 (P3K6912CC) to 0.61 (P6K25CC), with a mean of 0.50 (Table 2). Observed heterozygosity (H_o), on the other hand, ranged from 0.00 (P6K71CC, p3K418CC, P3K170CC, P3K2152CC, P3K1382A5, P3K149C0, and ctg-365A) to 0.66 (P3K3407CC), averaging 0.12. The fixation index (F) or inbreeding coefficient ranged from -0.11 (P3K3407CC) to 1.00 (P6K71CC, P3K418CC, P3K170CC, P3K2152CC, P3K1382A5, P3K149C0, ctg-365A) with a mean of 0.77.

Table 2. Diversity parameters for 30 SSR markers in *C. papaya* genotypes from the AGB of UENF/Caliman Agricola S/A

Locus	Na	I	Ho	He	F
CPM1621CC	3	0.74	0.33	0.50	0.35
P6K1117CC	4	1.03	0.16	0.57	0.72
P6K1268CC	3	0.62	0.12	0.39	0.69
P3K6912CC	3	0.60	0.11	0.37	0.69
P3K1850CC	2	0.68	0.14	0.49	0.71
ctg-365A5	2	0.59	0.00	0.40	1.00
P3K149C0	2	0.66	0.00	0.46	1.00
CPM1554C2	3	0.77	0.07	0.50	0.86
P3K1382A5	3	0.91	0.00	0.55	1.00
P6K900CC	4	0.97	0.16	0.53	0.70
ctg-41S5	2	0.69	0.02	0.49	0.95
P3K3511CC	4	0.97	0.14	0.56	0.76
P6K25CC	3	1.01	0.02	0.61	0.96
P3K2152CC	2	0.61	0.00	0.42	1.00
P3K170CC	3	0.79	0.00	0.52	1.00
P3K7483A5	5	1.29	0.16	0.68	0.77
P3K5113C0	5	1.04	0.14	0.56	0.75
P3K418CC	3	0.66	0.00	0.41	1.00
P3K3407CC	3	0.99	0.66	0.59	-0.11
CPM746LCC	4	1.05	0.14	0.59	0.77
P3K4489CC	3	0.74	0.07	0.51	0.87
ctg-203C0	2	0.69	0.07	0.49	0.86
ctg-718CC	4	1.01	0.16	0.54	0.70
P3K4272CC	3	0.84	0.09	0.48	0.81
P3K917C0	3	0.73	0.14	0.44	0.69
P3K86CC	3	0.63	0.12	0.38	0.69
P6K71CC	2	0.59	0.00	0.40	1.00
P6K128CC	3	0.81	0.19	0.53	0.64
P8K187CC	3	0.64	0.23	0.41	0.43
P3K3490CC	2	0.68	0.02	0.49	0.95
Mean	3	0.80	0.12	0.50	0.77

NA: number of alleles; I: information index; He: expected heterozygosity; Ho: observed heterozygosity; and F: fixation index.

Genetic variability of *C. papaya* accessions

Regarding the performance of the genotypes (Table 3), the obtained heterozygosity (H) ranged from 0.00 (Costa Rica, Sekati, STA Helena III TRA 02A PLT 08, and UCLA08-088) to 0.67 (Candy Reciprocal), averaging 0.11. When we compare the groups, the mean values of H were higher in the Formosa (0.18) compared with the Intermediate (0.06) and Solo (0.05) groups.

Table 3. Diversity parameters in *C. papaya* genotypes from the AGB, based on microsatellite markers

Genotype	Group	H	<i>f</i>
Caliman M5	Solo	0.07	0.87
Sunrise Solo 783	Solo	0.07	0.89
Grampola	Solo	0.07	0.87
Sunrise Solo	Solo	0.07	0.86
Caliman AM (amarelinho)	Solo	0.07	0.89
Caliman SG (Super Golden)	Solo	0.07	0.87
Sunrise Solo (SS-72/12)	Solo	0.07	0.87
Kapoho polpa amarela	Solo	0.03	0.94
Baixinho de Sta Amalha (BSA)	Solo	0.03	0.94
Sunrise Solo TJ	Solo	0.03	0.93
Kapoho polpa vermelha	Solo	0.03	0.94
Sunrise solo (Pro Tainung)	Solo	0.04	0.94
M-4	Solo	0.03	0.93
Golden tipo formosa	Solo	0.13	0.76
STZ 03 Pecíolo curto	Solo	0.07	0.86
Papaya 46 claro	Solo	0.07	0.89
RN. Selecionado	Solo	0.03	0.94
B5 – Geraldo	Solo	0.03	0.94
Cimarron	Solo	0.21	0.70
THB	Solo	0.03	0.94
Aliança	Solo	0.03	0.94
Costa Rica	Intermediate	0.00	1.00
Triwan ET	Intermediate	0.07	0.87
São Mateus	Intermediate	0.03	0.95
Baixinho Super	Intermediate	0.10	0.83

Table 3, Cont.;

Genotype	Group	H	<i>f</i>
Tailandia	Formosa	0.03	0.95
Sekati	Formosa	0.00	1.00
JS12 (206)	Formosa	0.07	0.85
Califlora 209	Formosa	0.29	0.57
STA Helena III TRA02A PLT 08	Formosa	0.00	1.00
STA Helena III TRA 14A PLT 05	Formosa	0.07	0.89
Crioula de Costa Rica	Formosa	0.30	0.54
UCLD08-05II5	Formosa	0.33	0.44
UCLD08-08II5	Formosa	0.45	0.34
UCLD08-29II5	Formosa	0.00	1.00
UCLA08-012	Formosa	0.03	0.95
UCLA08-080	Formosa	0.04	0.94
UCLA08-088	Formosa	0.00	1.00
UCLA08-092	Formosa	0.07	0.89
UCLA08-097	Formosa	0.10	0.82
UCLA08-101	Formosa	0.03	0.94
Candy	Formosa	0.63	0.03
Vitória	Formosa	0.40	0.26
Candy Reciprocal	Formosa	0.67	-0.03
Mean		0,11	0.81

H, corresponds to heterozygosity and *f*, to the inbreeding coefficient.

The inbreeding coefficient (*f*), in turn, obtained for the different genotypes (Table 3), ranged from -0.03 (Candy Reciprocal) to 1.00 (Costa Rica, Sekati, STA Helena III TRA 02A PLT 08, and UCLA08-088) and averaged 0.81, corroborating the information obtained for the population. As regards the groups, the mean *f* was 0.89, 0.91, and 0.70 for the Solo, Intermediate, and Formosa groups, respectively.

Among the *C. papaya* lines, only 12.5% showed an H equal to zero and, consequently, an *f* equal to 1.0. In contrast, 37.5% of the lines had an *f* between 0.93 and 0.99 and H ranging from 0.03 to 0.04, whereas 50% of the lines showed an H below 0.90 and *f* ranging from 0.07 to 0.45. Thus, we may conclude that only 12.5% of the lines are in homozygosis, whereas 87.5% of them have an H above and an *f* below the expected for pure lines, indicating accession segregation.

Genetic structure analysis

Genetic structure analysis was approached by the Bayesian method, using the ΔK criterion (Evanno et al., 2005) to make inferences about the genetic structure of the different papaya accessions. The analysis was carried out using Structure software, by selecting an optimal value of K, where K=2 was obtained as the most likely grouping number (Figure 1)

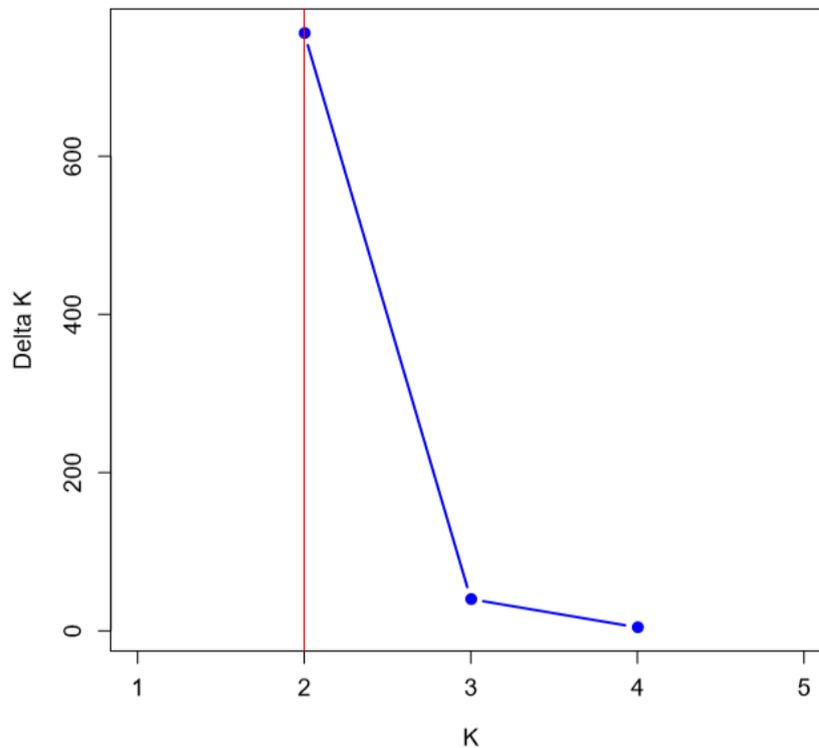


Figure 1. ΔK peak graph indicating the optimal number of genetic clusters for Bayesian analysis obtained using Structure software v. 2.3.4.

The probability of membership adopted was 70% for each genotype belonging to a certain group. The 44 genotypes of *C. papaya*, including hybrids and lines, formed two groups (Figure 2).

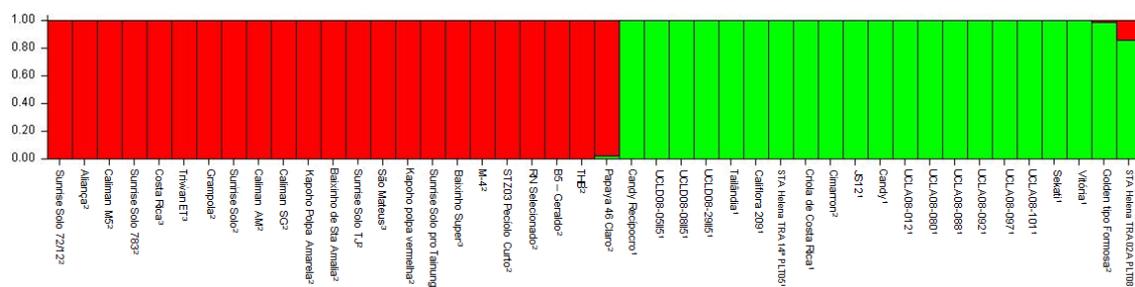


Figure 2. Bayesian inference clusters of 44 *Carica papaya* genotypes. Genotypes are represented on the vertical line, and each genetic group is represented by a color. Genotypes belonging to the ¹Formosa, ²Solo, and ³Intermediate groups.

The green group was composed of genotypes belonging to the Formosa group (hybrids and lines) as well as accessions Cimarron and Golden Golden tipo Formosa, of the Solo group, whereas the red group consisted of genotypes of the Solo and Intermediate groups. The accessions classified on the basis of morphological traits (fruit size and weight) STA Helena III TRA02 PLT08 in Formosa and the accessions Golden tipo Formosa and Papaya 46 Claro, classified as Solo, showed alleles belonging to both groups, but the set of alleles that define them belongs to the green (STA Helena III TRA02 PLT08 and Papaya 46 Claro) and red (Golden type Formosa) groups, Formosa and Solo, respectively. The other genotypes, in turn, showed 100% membership to the group.

The cophenetic correlation index was 0.97, indicating a strong correlation between the phenetic and dissimilarity matrices and high representativeness of the dendrogram formed. Meanwhile, diversity analysis, obtained by the average group linkage method (UPGMA), indicated the formation of two groups (Figure 3). We thus have two groups created, where within-group homogeneity and between-group heterogeneity can be observed.

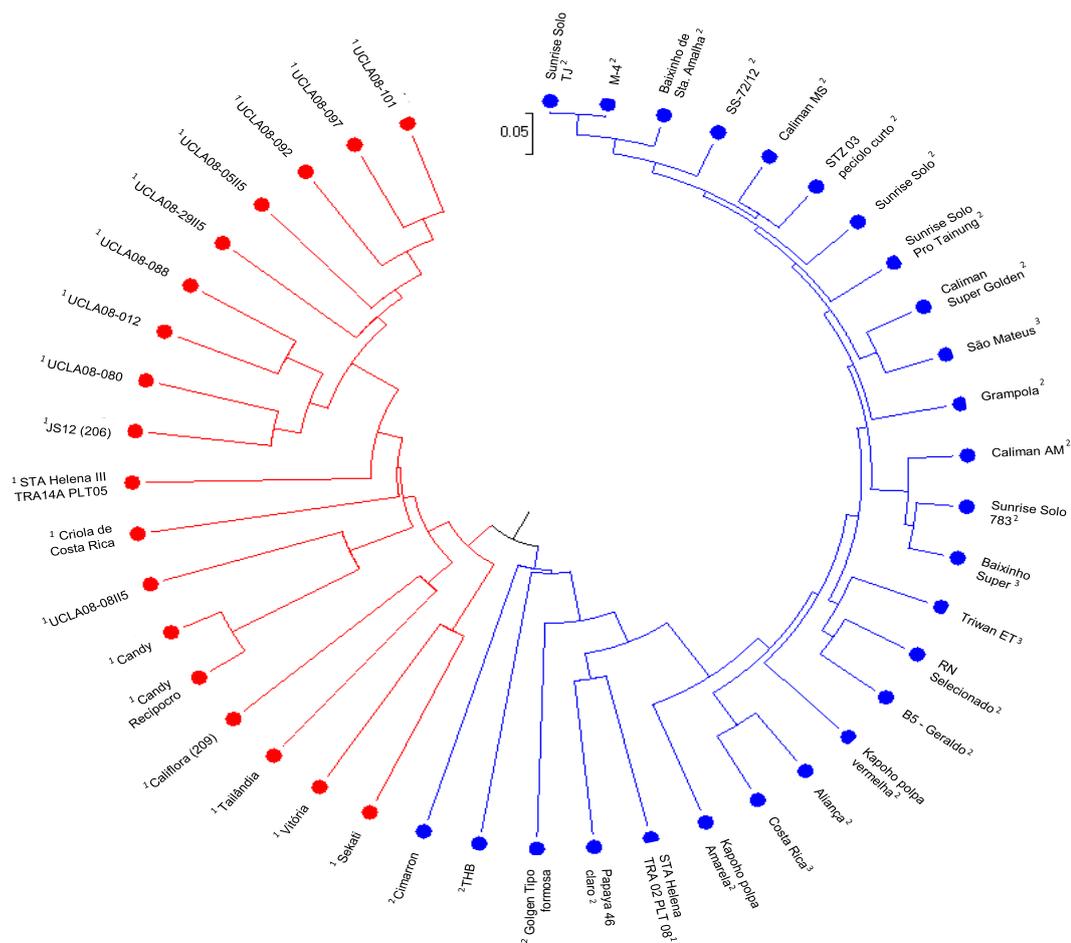


Figura 3. Dendrogram of genetic dissimilarity by the UPGMA clustering method, via SSR markers, based on the analysis of 44 genotypes from the Germplasm Bank of UENF/Caliman Agrícola S/A (cophenetic correlation coefficient = 0.97). ¹Formosa type fruit, ²Solo type fruit, ³Intermediate type fruit.

Cluster I (red) consisted of 18 genotypes, all of which belonged to the Formosa group, whereas Cluster II (blue) contained 26 genotypes: 21 belonging to the Solo group, one to the Formosa group, and four to the Intermediate group. Only genotype STA Helena III TRA02 PLT08, belonging to the Formosa group, was allocated to Cluster II, in which the Solo and Intermediate genotypes are grouped. This behavior may be related to the non-fixation of alleles and the consequent occurrence of “mixing” between accessions, and even if the membership coefficient (Table 2B) is considered low (13%), it may have contributed to the allocation of this material in Cluster II. Regarding the Candy hybrid and its reciprocal, the similarity between accessions was 91%, with 55 alleles in common for the 30 evaluated loci. The high similarity observed between Candy and its reciprocal is because they have the same parents.

Seed quality analysis

Germination is the process of resumption of embryonic axis growth. It is an ordered sequence of metabolic activities that begins with the soaking of the seed. According to MAPA (2019), germination rates greater than or equal to 60% are considered adequate for papaya seeds. Of the 44 elite genotypes evaluated (Table 4), 25% exhibited germination considered adequate by MAPA for the marketing of seeds.

Among the accessions with %G greater than 60% are UCLA08-088 (94%), UCLA08-092 (90%), UCLA08-097 (83%), UCLA08012 (85%), UCLD08-29II5 (76%), UCLD08-05II5 (71%), and Candy Reciprocal (93%), belonging to the Formosa group; and Sunrise Solo SS72/12 (76%), THB (85%), Tailandia (78%), and STZ03 Pecíolo Curto (68%), of the Solo group. None of the accessions belonging to the Intermediate group had a germination percentage above 60%, and Triwan ET (%G = 43%) was the accession with the highest germination rate in the group.

The different papaya accessions had an average %AS of 6.86%. On average, the Formosa, Solo, and Intermediate groups showed %AS values of 7.0, 7.0, and 2%, respectively. Among the 41 accessions of *C. papaya*, 73.2% had an %AS below 10%, and of these, only 23.3% exhibited a %G above 60%, meaning they are not good-quality seeds.

The average GSI of the evaluated accessions was 1.43. Between the groups, the Formosa, Solo, and Intermediate types showed average GSI of 2.0, 1.0, and 1.0, respectively. Germination speed index reflects the average speed of seed germination, with higher values meaning a faster germination process.

Therefore, among the 41 genotypes evaluated, 11 (UCLA08-088, UCLA08-092, UCLA08-097, UCLA08-012, UCLD08-05II5, UCLD08-29II5, Candy Reciprocal, Sunrise Solo SS72/12, THB, Tailandia, and STZ03 Pecíolo Curto) have important traits for obtaining seeds with high physiological quality. As such, these accessions can be used in the papaya breeding program aiming at improved seed quality, since the above-mentioned genotypes—which belong to the different groups (Solo, Intermediate, and Formosa)—have an average germination rate of 82%, which is above the standard set at 60% by MAPA (2019) for sale.

Table 4. Physiological traits of *Carica papaya* seeds from the AGB of UENF/Caliman Agricola S/A

Genótipo	G (%)	AS (%)	GSI
Sunrise Solo (SS-72/12)	76 b	19 c	5.83 a
Candy	93 a	3 a	4.65 b
Aliança	37 e	15 c	1.89 g
Candy Reciprocal	51 c	3 a	2.72 e
UCLD08-05II5	71 b	11 b	3.17 d
UCLD08-08II5	58 c	11 b	2.27 f
UCLD08-29II5	77 b	16 c	1.90 g
Caliman M5	3 g	2 a	0.17 k
Sunrise Solo 783	0 g	0 a	0.01 k
Costa Rica	4 g	0 a	0.09 k
Triwan ET	43 d	12 b	2.37 f
Grampola	4 g	3 a	0.19 k
Sunrise Solo	5 g	2 a	0.04 k
Caliman AM	20 f	10 b	1.20 i
Caliman SG	7 g	6 b	0.25 k
Kapoho polpa amarela	0 g	2 a	0.04 k
Baixinho de Sta Amalha (BSA)	1 g	2 a	0.07 k
Sunrise Solo TJ	1 g	2 a	0.07 k
Tailandia	78 b	0 a	3.84 c
São Mateus	2 g	0 a	0.07 k
Kapoho polpa vermelha	15 f	9 b	0.80 j
Sunrise solo (Pro Tainung)	2 g	2 a	0.08 k
Baixinho Super	3 g	3 a	0.06 k
M-4	0 g	3 a	0.05 k
Califlora 209	2 g	0 a	0.06 k
Golden tipo formosa	1 g	1 a	0.04 k
STZ 03 pecíolo curto	69 b	7 b	3.09 d
STA Helena III TRA 02A PLT 08	0 g	1 a	0.01 k
STA Helena III TRA 14A PLT 05	0 g	0 a	0.00 k
Papaya 46 claro	21 f	46 f	2.19 f
RN. Selecionado	55 c	5 a	2.49 f
Criola de Costa Rica	0 g	0 a	0.00 k
B5 – Geraldo	0 g	2 a	0.06 k
Cimarron	2 g	7 b	0.20 k
JS12	0 g	5 b	0.14 k
UCLA08-012	85 a	10 b	4.43 b
UCLA08-013	54 c	10 b	2.19 f
UCLA08-080	37 e	27 d	0.95 j
UCLA08-088	94 a	0 a	3.90 c
UCLA08-092	88 a	2 a	1.72 h
UCLA08-097	87 a	5 b	1.22 i
UCLA08-101	55 c	37 e	1.70 h
THB	85 a	2 a	4.12 c
Vitória	0 g	26 d	1.31 i

CV (%) corresponds to the coefficient of variation, expressed in percentage terms. Means followed by the same letter belong to the same group according to the Scott-Knott test at 5% probability.

Prediction of crosses aiming at improved seed quality

By jointly analyzing the results obtained in the different analyses carried out (dissimilarity, population structure, and seed physiological quality), it is possible to establish the possible crosses between the most divergent genotypes and those that possess the best seed traits (Table 5).

Table 5. Possible crosses between *Carica papaya* genotypes from the AGB of UENF/Caliman Agrícola S/A aiming at improved seed quality

		Cross		
Formosa × Formosa			%D	CA
UCLA08-088	×	UCLA08-092	39.28	38
UCLA08-088	×	UCLA08-012	24.49	45
UCLA08-088	×	UCLA08-097	29.08	43
UCLA08-088	×	UCLD08-05II5	44.39	33
UCLA08-088	×	Candy Reciprocal	58.16	24
UCLA08-088	×	Tailandia	57.65	27
UCLA08-088	×	UCLD08-29II5	34.69	42
UCLA08-092	×	UCLA08-012	50.51	30
UCLA08-092	×	UCLA08-097	26.53	45
UCLA08-092	×	UCLD08-05II5	55.57	27
UCLA08-092	×	Candy Reciprocal	59.18	24
UCLA08-092	×	Tailandia	57.65	26
UCLA08-092	×	UCLD08-29II5	35.20	40
UCLA08-012	×	UCLA08-097	45.41	33
UCLA08-012	×	UCLD08-05II5	42.86	34
UCLA08-012	×	Candy Reciprocal	57.65	25
UCLA08-012	×	Tailandia	59.69	27
UCLA08-012	×	UCLD08-29II5	41.84	37
UCLA08-097	×	UCLD08-05II5	45.40	32
UCLA08-097	×	Candy Reciprocal	54.08	27
Formosa x Formosa				
UCLA08-097	×	Tailandia	62.75	24
UCLA08-097	×	UCLD08-29II5	36.22	40
Candy Reciprocal	×	UCLD08-29II5	66.33	20
Candy Reciprocal	×	Tailandia	67.35	22
Tailandia	×	UCLD08-29II5	44.89	34
Solo × Solo				
Sunrise Solo	×	THB	64.28	23
Sunrise Solo	×	STZ 03 Pecíolo Curto	12.24	54
THB	×	STZ 03 Pecíolo Curto	67.35	21

Table 5, Cont.:

Solo × Formosa			%D	CA
Sunrise Solo	×	UCLA08-088	82.65	10
Sunrise Solo	×	UCLA08-092	74.49	14
Sunrise Solo	×	UCLA08-012	78.57	14
Sunrise Solo	×	UCLA08-097	80.1	11
Sunrise Solo	×	UCLD08-05II5	55.61	27
Sunrise Solo	×	Candy Reciprocal	57.14	27
Sunrise Solo	×	Tailandia	56.63	27
Sunrise Solo	×	UCLD08-29II5	79.09	13
THB	×	UCLA08-088	24.49	45
THB	×	UCLA08-092	50.51	30
THB	×	UCLA08-012	79.59	14
THB	×	UCLA08-097	45.41	33
THB	×	UCLD08-05II5	68.88	20
THB	×	Candy Reciprocal	67.35	21
THB	×	Tailandia	76.02	16
THB	×	UCLD08-29II5	70.41	20
STZ 03 Pecíolo Curto	×	UCLA08-088	85.71	9
STZ 03 Pecíolo Curto	×	UCLA08-092	81.12	11
STZ 03 Pecíolo Curto	×	UCLA08-012	81.63	13
STZ 03 Pecíolo Curto	×	UCLA08-097	81.12	11
STZ 03 Pecíolo Curto	×	UCLD08-05II5	60.71	25
STZ 03 Pecíolo Curto	×	Candy Reciprocal	60.2	26
STZ 03 Pecíolo Curto	×	Tailandia	61.73	24
STZ 03 Pecíolo Curto	×	UCLD08-29II5	81.12	12
Total				91

%D, corresponds to the percentage of dissimilarity; CA, corresponds to the number of alleles in common between the accessions

In view of this, to obtain genotypes that produce fruits of the standard Formosa type (Formosa × Formosa), we suggest crossing between lines Tailandia × UCLA08-097 or Candy Reciprocal and UCLD08-29II5 × Candy Reciprocal. For standard Solo fruits, we recommended crossing THB × Sunrise Solo or STZ 03 Pecíolo Curto. Finally, for standard Intermediate fruits (Formosa × Solo), we recommend crosses between accessions THB × UCLA08-012, Tailandia, or UCLD08-29II5 and crosses between the Sunrise Solo or STZ 03 Pecíolo Curto lines with the following lines: UCLA08-088, UCLA08-092, UCLA08-012, UCLA08-097, and UCLD08-29II5.

DISCUSSION

Genetic diversity

Greater genetic variability is expected in germplasm banks, given the existence of accessions with different traits, which can be related to the fruit, the plant, disease resistance, among others. Therefore, greater molecular variation is expected within AGBs compared with isolated accessions. However, the variability found in the AGB of UENF/Caliman was lower than the average of 4.53 and 4.0 alleles per locus found in AGBs by Matos et al. (2013) and Oliveira et al. (2010), respectively, with the use of microsatellite markers. This low number of alleles observed in the present study is the result of restricted genetic variability and the genetic structure of the evaluated population. In fact, the AGB of UENF/Caliman is maintained through controlled pollination to obtain hybrids (controlled crosses) and lines (controlled self-pollination), which tends to maintain or reduce the number of alleles per locus, resulting in the low variability observed. Furthermore, new accessions are commonly obtained in the AGB of UENF/Caliman by backcrossing and by crossing related individuals. Thus, the method adopted for maintaining and obtaining new accessions causes the genetic variability estimated for the AGB of UENF/Caliman to be lower than that of AGBs that contain accessions from different countries and unrelated individuals, as is the case of the AGBs evaluated by Matos et al. (2013) and Oliveira et al. (2010).

The 30 microsatellite markers used (Table 1) showed an Information index (I), an indicator of marker quality in genetic studies (segregation, population and paternity control) upside 0.5. According to the classification established by Botstein et al. (1980), 100% of these markers are considered highly informative and, therefore, have great utility in molecular characterization studies. The obtained results were superior to those observed by Shivkumar et al. (2014), who used 20 SSR markers to estimate genetic diversity in seven accessions of Indian papaya (*C. papaya*) and obtained I values that ranged from 0.215 to 0.370, with a mean of 0.240, considered uninformative.

The observed variation in H_o and H_e values results from the amplitude of the number of alleles per locus and the distribution of allele frequencies. The H_o value of 0.00 in loci P6K71CC, p3K418CC, P3K170CC, P3K2152CC, P3K1382A5, P3K149C0, and ctg-365A can be explained by the low number of alleles in these loci (2 to 3 alleles), as well as their homozygous status (Oliveira et al. 2010). Therefore, when comparing the H_o and H_e estimates, with the exception of locus P3K3407CC, a deficit of heterozygotes is observed, since expected heterozygosity is higher than that observed in the evaluated *C. papaya* genotypes. This behavior (i.e. homozygosity > heterozygosity) is expected, given that the AGB is maintained under field conditions with self-pollination in hermaphrodite plants for the conservation and maintenance of pure lines. Oliveira et al. (2010), Matos et al. (2013), and Pirovani et al. (2020) obtained similar results in studies evaluating papaya accessions from AGBs of papaya.

Genetic variability

For F_i values close to zero indicate random crosses, while negative values indicate excessive heterozygosity and that inbreeding for that locus is null in the population, as can be seen in locus P3K3407CC, where H_o was higher than H_e , resulting in a low F_i . Therefore, for this locus, inbreeding is not occurring. In contrast, high positive values indicate high inbreeding (Peakall; Smouse, 2012). The high F_i (1.0) found in loci P6K71CC, P3K418CC, P3K170CC, P3K2152CC, P3K1382A5, P3K149C0, and ctg-365A reflects a decrease in the frequency of heterozygotes and, consequently, an increase in the frequency of homozygotes and allele fixation. For pure lines, as is the case of the genetic material under study, with the exception of hybrids Vitória, Candy, and Candy Reciprocal, $F_i=1$ is expected; i.e. the individuals are homozygous and have their allele fixed. Therefore, there is no segregation of these lines. Regarding the performance of hybrids Vitória, Candy, and its reciprocal, their heterozygosity is expected to be superior to that shown by the other genotypes of *C. papaya*, which are pure lines. The average H_i of hybrids and isolated reciprocals was 0.57, indicating the contribution of both parents.

For the maintenance of the AGB, lines are obtained from the self-pollination of accessions, which is achieved by protecting the hermaphrodite flowers with paper bags to avoid free pollination. In the case of hybrids, parents are crossed by

removing the closed hermaphrodite flower of the male plant and subsequently inserting it in the female flower of the mother plant; then, the pollinated flowers are protected with paper bags. In this way, free pollination does not occur and the accessions keep their alleles fixed. However, due to the occurrence of diseases, bird attacks, and adverse weather, the fruit obtained from controlled pollination may be lost, and in these situations, fruits obtained from free pollination are collected to avoid losing the accession. Although papaya is an autogamous plant with cleistogamy (i.e. it was already self-pollinated by the time the hermaphrodite flower completely open), even if at low frequency, cross-pollination can occur in free-pollinated individuals, which culminates in the segregation observed in accessions of the AGB of UENF/Caliman S/A.

Segregation of accessions in an AGB must be taken into account during the process of obtaining hybrids and commercial lines, since allele fixation in parental lines, as well as in commercial lines, is essential to ensure the uniformity of lines and hybrids developed. The use of seeds obtained from materials whose alleles are not fixed leads to the occurrence of segregation, resulting in fruits and plants outside the desired pattern, thereby affecting the quality of the orchard and the uniformity of fruits. This lack of uniformity leads to financial damages as well as loss of genetic material or important traits. It is worth mentioning that the papaya AGB of UENF/Caliman is one of the main germplasm banks in Brazil, which highlights the importance of fixing alleles in the accessions kept by the AGB so that there is no loss of traits such as pulp color, firmness, flavor, plant height, and disease resistance.

This observed segregation of genotypes can, nonetheless, be used to improve the quality of a registered cultivar or help in the development of new lines with different traits, thus increasing the diversity of materials that can be used in breeding programs of the species. Pirovani et al. (2022) reported that there is a possibility of purifying the parents JS12, Sunrise Solo (SS-72/12), and Sekati and that segregation in the parents can be exploited in the papaya breeding program to obtain hybrids such as UC10 and Candy, with different fruit weights and sizes, to better meet the market demands (Luz et al. 2015; Pereira et al. 2019b, c).

Genetic structure analysis

Due to the narrow genetic base of papaya, new cultivars are commonly obtained from segregating populations of this crop. These populations have sufficient genetic variability to identify promising genotypes that carry important characteristics such as disease resistance, quality, and fruit production (Cortes et al., 2019; Pirovani et al., 2022), which can thus provide significant genetic resources, increasing variability and contributing to the development of new papaya cultivars. Among its accessions, the AGB of UENF/Caliman Agrícola S/A has genotypes resulting from segregation and pollination between related and unrelated individuals, and the high membership coefficient revealed by genetic structure analysis informs that the genetic structure of the accessions belonging to the AGB is well defined. However, some accessions have “mixtures” because their alleles are not completely fixed, as is the case with genotypes STA Helena III TRA02 PLT08, Papaya 46 Claro, and Golden tipo Formosa. For the other genotypes, the observed absence or low sharing of alleles is due to controlled pollination for the maintenance of pure lines and hybrids in the AGB of UENF/Caliman Agrícola S/A. These self-pollinations prevent the exchange of alleles between genotypes; therefore, the groups formed from the evaluated accessions have a well-defined genetic constitution.

In the above-described scenario, Bayesian analysis allowed us to identify individuals who share the same genomic regions analyzed. The formation of groups associated with the high membership of the genotypes to their respective groups is sufficient to guide the selection of contrasting parents for crosses between the *C. papaya* genotypes.

Diversity analysis as obtained by the average group linkage method (UPGMA)

Cluster analysis based on molecular traits tends to separate the two main heterotic groups: Solo and Formosa. Therefore, it can be stated that the Formosa and Solo heterotic groups have divergent genetic traits and the existing variability between groups was sufficient for them not to fit into the same group. Pirovani et al. (2020) observed that papaya genotypes tend to separate according to their heterotic group (Solo and Formosa), and differ basically by the size and weight of their fruit.

The fruit of the Solo heterotic group has an average weight of 0.5 kg and is smaller than Formosa group, which is relatively larger, with an average weight above 1.0 kg. Santa-Catarina et al. (2020) undertook a phenotypic characterization of papaya genotypes and reported that fruit size was the trait that most contributed to the formation of groups. Thus, the characterization of diversity in papaya genotypes via molecular markers, as well as morphological analysis, is able to separate individuals from the Solo and Formosa groups.

Molecular characterization contributed to the detection of existing genetic variability and allocation of genotypes into heterotic groups, allowing greater genetic gains to be achieved through selection, as it indicates crosses between divergent parents. In this way, it facilitates the process of parental selection. An example of this is the commercial hybrids Candy and Vitória. Therefore, dissimilarity analysis via SSR markers facilitates the process of selecting divergent genotypes between groups as well of the most dissimilar genotypes within the heterotic group. In the future, this technique may be used to indicate crosses between Formosa × Formosa and Solo × Solo lines to obtain standard Formosa and Solo hybrids, respectively, and Formosa × Solo crosses to obtain Intermediate fruits (Pereira et al. 2019a).

Seed quality and prediction of hybrid crosses to improve seed quality

In terms of germination, the 41 accessions of *C. papaya* vary widely (0 to 94%) and the process occurs slowly and unevenly. Factors such as time of pollination, storage time, water content, dormancy, as well as genetic factors, are linked to the low germination percentage of papaya. In this respect, the behavior shown by the genotypes highlights the importance of assessing seed quality during the papaya breeding process.

Seeds from Formosa type fruits tend to show a higher GSI than those of the Solo and Intermediate groups. This behavior is related to morphological traits such as seed size and weight (Buides et al., 2017). Formosa fruits have larger and heavier seeds when compared with the Solo and Intermediate groups, and the combination of these factors gives these seeds greater energy reserves. However, the effect of seed size on GSI occurs with greater intensity during the initial growth of the seedling and tends to decrease throughout its development (Carvalho; Nakagawa, 2012).

Seeds with high physiological quality have the ability to germinate, emerge, and produce vigorous and healthy plants, and the lower the %AS, the greater the ability of a seed to form normal seedlings, whereas higher GSIs mean faster germination. However, the isolated evaluation of %AS and GSI cannot provide information about seed vigor, warranting a combined analysis of these variables for its assessment. In this respect, the high GSI (5.84) exhibited by genotype Sunrise Solo SS 72/12 reflects its high percentage of abnormal seedlings (19%) and high germination percentage (76%), since GSI is determined from the production of the radicle, whereas %AS is determined by the formation of abnormal seedlings at the end of 30 days. In this context, genotypes such as UCLA08-088, which has a high germination percentage (94%), coupled with low formation of abnormal seedlings (1%) and adequate GSI (3.9), produce high-vigor seeds, which ultimately facilitate the establishment of the crop. Vigorous seeds tend to form seedlings that are stronger and more resistant to stress, thus being less susceptible to bad weather during the establishment of the crop in the field. Genotypes such as accession UCLA08-097 (83% G, 7% AS, and 1.19 GSI), in turn, which have a low GSI, make plants more susceptible to competition with weeds, as they require more time to emerge and establish themselves, thus hindering the establishment of the crop and formation of the plant stand in the field.

In this way, based on the pre-selection of genotypes with high seed quality (UCLA08-088, Candy Reciprocal, THB, UCLA08-012, UCLA08-097, UCLA08-092, Sunrise Solo SS 72/12, UCLD08-29II5, Tailandia, UCLD08-05II5, STZ 03 Pecíolo Curto), it was possible to define three crosses to obtain standard Formosa type fruits (Formosa × Formosa); two for standard Solo type fruits (Solo × Solo); and 13 crosses to obtain Intermediate type fruits (Solo × Formosa), totaling 18 potential crosses to obtain new genotypes aiming at improved seed quality.

Of the 41 accessions evaluated, 11 showed good seed quality. It is worth mentioning that identifying genotypes that comprise high germination percentage + adequate GSI + low percentage of abnormal seedlings increases the probability of obtaining new accessions with high seed quality. It also makes it possible to improve genetic materials with high fruit quality, for instance, but whose seeds' quality is a limiting factor. Therefore, knowledge about the genetic structure and physiological quality of seeds belonging to the AGB of UENF/Caliman Agrícola S/A is fundamental for the selection of individuals as well as the prospecting of future crosses and

production of new varieties that meet the standard established by MAPA for seed production and marketing.

CONCLUSION

The use of microsatellite markers revealed the existing genetic diversity between the papaya accessions and the excess of heterozygotes present in the lines of the AGB of UENF/Caliman Agrícola S/A, warranting the purification of these lines.

The UPGMA clustering method and genetic structure analysis via microsatellite markers were sensitive enough to discriminate two heterotic groups, identifying the individuals that most diverge and thus generating genetic information that can be used as a basis for the papaya breeding program.

Based on divergence and genetic structure analyses and the evaluation of seed physiological traits, 18 potential crosses can be recommended to improve seed quality.

REFERENCES

- ALVARES, C. A.; STAPE, L. J.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G. Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, p. 711-728, 2013. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>
- BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Hum Genetics**, v. 32, p. 314–331, 1980.
- Brasil (2009) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Regras para Análise de Sementes. MAPA/ACS, 395p.

- BUIDES, J. A. F.; ÁLVAREZ, A. G.; LA FÉ, P. L. C.; SÁNCHEZ, G. G. Aspectos anatómicos y viabilidad de semillas de papaya (*Carica papaya* L.) variedad "Maradol Roja" sometidas a almacenamiento prolongado. **Agrotecnia de Cuba**, v. 41, p. 41–51, 2017.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. (2012) **Sementes: Ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. Jaboticabal: Funep, 2012. 590 p.
- CHÁVEZ-PESQUEIRA, M.; NÚÑEZ-FARFÁN, J. Domestication and Genetics of Papaya: A Review. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 5, 155, 2017. <https://doi.org/10.3389/fevo.2017.00155>
- CORTES, D. F. M.; SANTA-CATARINA, R.; VETTORAZI, J. C. F.; RAMOS, H. C. C.; VIANA, A. P.; PEREIRA, M. G. Development of superior lines of papaya from the Formosa group using the pedigree method and REML/Blup procedure. **Bragantia**, v. 78, p. 350–360, 2019. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.20180253>
- CRUZ, C. D. Acta Scientiarum GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 35, p. 271–276, 2013. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v35i3.21251>
- DIAS, M. A.; DIAS, D. C. F. S.; GOMES JUNIOR, F. G.; CÍCERO, S. M. Morphological changes and quality of papaya seeds as correlated to their location within the fruit and ripening stages. **IDESIA**, v. 32, p. 27–34, 2014.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. **Focus**, v. 12, p. 13–15, 1990.
- EUSTICE, M.; YU, Q.; LAI, C. W. Development and application of microsatellite markers for genomic analysis of papaya. **Tree Genetics & Genomes**, v. 4, p. 333–341, 2008. <https://doi.org/10.1007/s11295-007-0112-2>
- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, p. 2611–2620, 2005. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- FAO - Food and Agriculture Organization. **Corporate statistical database**. 2022. Available at: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Access in: JAN. 2023.
- JESUS, V. A. M.; ARAÚJO, E. F.; SANTOS, F. L.; DIAS, L. A. S.; SILVA, R. F. Sodium hypochlorite for removal of the sarcotesta from newly extracted and stored

- papaya seeds. **Journal of Seed Science**, v. 38, p. 358–364, 2016. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v38n4159502>
- LUZ, L. N.; PEREIRA, M. C.; BARROS, F. R.; BARROS, G. B.; FERRGUETTI, G. A. Novos híbridos de mamoeiro avaliados em condições de cultivo tradicional e no semiárido brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, p. 159–171, 2015. <https://doi.org/10.1590/0100-2945-069/14>
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, p. 176–177, 1932.
- MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Instrução normativa nº 42, de 17 de setembro de 2019. Normas para a Produção e a Comercialização de Sementes e Mudanças de Espécies Olerícolas, Condimentares, Medicinais e Aromáticas. Available at: <https://sidago.agrodefesa.gov.br/site/adicionaispropios/protocolo/arquivos/1088820.pdf>. Access in: JAN.2023.
- MARTINS, G. N.; SILVA, R. F.; ARAÚJO, E. F.; PEREIRA, M. G.; VIEIRA, H. D.; VIANA, A. P. Influência do tipo de fruto, peso específico das sementes e período de armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de mamão do grupo formosa. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, p. 12–17, 2005. <https://doi.org/10.1590/s0101-31222005000200003>
- MATOS, E. L. S.; OLIVEIRA, E. J.; JESUS, O. N.; DANTAS, J. L. L. Microsatellite markers of genetic diversity and population structure of *Carica papaya*. **Annals of Applied Biology**, v. 163, p. 298–310, 2013. <https://doi.org/10.1111/aab.12053>
- MELO, A. P. C.; SELEGUINI, A.; PEREIRA, J.; AURÉLIO NETO, R.; WISINTEINER, C.; NEVES, R. G.; CAMILO, Y. M. V. Maturação de frutos e tratamento pré-germinativo na produção de mudas de mamão. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, p. 330–337, 2015. <https://doi.org/10.19084/rca.16937>
- OLIVEIRA, E. J.; AMORIM, V. B. O.; MATOS, E. L. S.; COSTA, J. L.; CASTELLEN, M. S.; PÁDUA, J. G.; DANTAS, L. L. L. Polymorphism of microsatellite markers in Papaya (*Carica papaya* L.). **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 28, p. 519–530, 2010. <https://doi.org/10.1007/s11105-010-0180-6>
- PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research--an update. **Bioinformatics**, v. 28, p. 2537–2539, 2012. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>

- PEREIRA, M. G.; POLTRONIERI, T. P. D. S.; PEREIRA, T. N. S.; RAMOS, H. C. C.; SANTA-CATARINA, R.; VETTORAZZI, J. C. F.; ARÊDES, F. A.; BOECHAT, M. S. B.; VENÂNCIO, T. M.; AZEVEDO, A. O. N.; CORTES, D. F. M.; MOREIRA, N. F.; BOHRY, D.; SILVEIRA, S. F.; VIVAS, M.; FORREGUETTI, G. A. Twenty-two-year papaya breeding program: From breeding strategy establishment to cultivar. **Functional Plant Breeding Journal**, v. 1, p. 9–27, 2019a. <http://dx.doi.org/10.35418/2526-4117/v1n2a2>
- PEREIRA, M. G.; LUZ, L. N.; SANTA-CATARINA, R.; RAMOS, H. C. C.; PEREIRA, T. N. S.; BARROS, G. B.; FERREGUETTI, A. G.; CORTES, D. F. M.; VETTORAZZI, J. C. F.; AZECEDO, A. O. N.; SILVEIRA, S. F.; OLIVEIRA, J. G.; VIANA, A. P. 'UC14': a new papaya cultivar with intermediate fruit size. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 19, p. 226–229, 2019b. <https://doi.org/10.1590/1984-70332019v19n2c31>
- PEREIRA, M. G.; LUZ, L. N.; SANTA-CATARINA, R.; RAMOS, H. C. C.; PEREIRA, T. N. S.; BARROS, G. B.; FERREGUETTI, G. A.; VIVAS, M.; CORTES, D. F. M.; VETTORAZZI, J. C. F.; AZECEDO, A. O. N.; SILVEIRA, S. F.; OLIVEIRA, J. G.; VIANA, A. P. UC10: a new early Formosa papaya cultivar. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 19, p. 131–134, 2019c. <https://doi.org/10.1590/1984-70332019v19n1c18>
- PIROVANI, A. A. V.; RAMOS, H. C. C.; DUARTE, R. P.; MIRANDA, D. P.; BOHRY, D.; SANTANA, J. G. S.; SANTOS, P. H. A. D.; PEREIRA, M. G. Molecular characterization of elite lines of papaya (*Carica papaya* L.) via SSR markers. **Functional Plant Breeding Journal**, v. 3, p. 49–58, 2020. <http://dx.doi.org/10.35418/2526-4117/v3n1a5>
- PIROVANI, A. A. V.; RAMOS, H. C. C.; SANTA-CATARINA, R.; MIRANDA, D. P.; RODRIGUES, A. S.; VETTORAZZI, J. C. F.; SILVA JUNIOR, I. R.; PEREIRA, M. G.; VIANA, A. P. Is there a possibility to improve a developed hybrid? A current demand on papaya (*Carica papaya* L.). **Euphytica**, v. 218, 64, 2022. <https://doi.org/10.1007/s10681-022-03014-y>
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetic Society of America**, v. 155, p. 945–959, 2000.
- SANTA-CATARINA, R.; VETTORAZZI, J. C. F.; CORTES, D. F. M.; SANTANA, J. G. S.; POLTRONIERI, T. P. S.; MIRANDA, D. P.; PIROVANI, A. A. V.; MOREIRA, N.

- F.; VIVAS, M.; PEREIRA, M. G. Phenotypic characterization of recurrent selection S₁ Papaya (*Carica papaya* L.) families by multivariate approach. **Euphytica**, v. 1, 117, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10681-020-02655-1>
- SANTOS, S.A., SILVA, R.F., PEREIRA, M.G., ALVES, E., MACHADO, J.C., BORÉM, F.M., GUIMARÃES, R.M., MARQUES, E.R. Estudos morfo-anatômicos de sementes de dois genótipos de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, p.116–122 (2009).
- SHIVKUMAR, P.; SHAMPURASAD, P.; ROHINI, B.; PETER, A. Molecular diversity analysis and sex determination in papaya (*Carica Papaya* L.) using molecular markers. **Supplement on Genetics and Plant Breeding**, v. 9, p. 1815–1820, 2014.
- VALE, L.; SÉRGIO, R.; MARTINS, P. H. M.; FÉLIX, M. J. D.; WINDER, A. R. S.; MARQUES, M. L. S.; ASSIS, E. Métodos de remoção da sarcotesta para superação de dormência em sementes de mamão. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, p. 41161–41174, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n6-598>
- WEBSTER, R. E., WATERWORTH, W. M., STUPPY, W., WEST, C. E., ENNOS, R., BRAY, C. M., PRITCHARD, H. W., Biomechanical, biochemical, and morphological mechanisms of heat shock-mediated germination in *Carica papaya* seed. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, p. 6373–6384, 2016.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

O mamão é a terceira fruta mais consumida no mundo, possui elevada importância econômica para o país, segundo maior produtor mundial da fruta. Suas sementes, que possuem alto valor comercial, são a principal maneira de propagação comercial da espécie. No entanto, a germinação da espécie é errática e existem controvérsias a respeito dos fatores que regulam seu processo germinativo. Sabe-se que fatores como época de colheita, tempo de repouso, estágio de maturação dos frutos, secagem e composição química e estrutura das sementes, são alguns dos fatores que afetam a capacidade germinativa e podem ocasionar a dormência pós-colheita. Além disso, as características genéticas dos genitores podem estar contribuindo para a alta variabilidade observada nos diferentes estudos que envolvem a avaliação da qualidade de sementes de mamoeiro. A identificação de genótipos de *C. papaya*, contrastantes e que detenham características favoráveis à melhoria na qualidade de sementes, é fundamental para o progresso da espécie, tendo em vista que o cultivo da cultura pode ser inviabilizado pelo uso de sementes de baixa qualidade. Os diferentes experimentos realizados evidenciaram que:

A fenotipagem digital é uma ferramenta viável na mensuração de descritores de sementes de mamoeiro.

Os descritores de sementes C23 (Dominância preta), G37 (Retângulos circunscritos: maior perímetro) e C29 (Predominante: Canal verde) podem ser utilizados em estudos de divergência genética do mamoeiro.

Existem diferenças fenotípicas entre sementes obtidas de frutos do tipo Solo e Formosa, principalmente em relação à Cor e Geometria.

A germinação de sementes é altamente correlacionada à porcentagem de sementes não germinadas, IVG e características de desenvolvimento das plântulas;

O peso das sementes não influenciou no potencial germinativo dos 44 genótipos de mamoeiro;

A baixa porcentagem de germinação das sementes de *C. papaya* é atribuída à alta porcentagem de sementes dormentes;

Os genótipos *Candy Recíproco* e UCLA08-088, com mais de 90% de germinação, possuem alta qualidade de sementes;

A associação da alta herdabilidade no sentido amplo e *lv* acima da unidade, indicam que há possibilidade de ganhos no processo de seleção genótipos de *C. papaya*, visando à melhoria na qualidade de sementes;

A utilização de marcadores microssatélites revelou a diversidade genética existente entre os acessos de mamoeiro e o excesso de heterozigotos presentes nas linhagens da AGB da UENF/Caliman Agrícola S/A, e;

Com base em análises de divergência e estrutura genética, e na avaliação de características fisiológicas de sementes, 18 possíveis cruzamentos podem ser recomendados para melhorar a qualidade das sementes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acha, A.J., Vieira, H.D. (2020) Digital image processing of coated perennial-soybean seeds and correlation with physiological attributes. *Journal of Sees Science*, 42(e202042004):1–12
- Alonso-Esquivel, M., Ortiz-López, Y., Ramos-Ramírez, R., Oliva-Díaz, H., Capote-del-Sol, M. (2011) Dormancia en semillas de papaya cv Maradol Roja durante el almacenamiento. *Agronomía Mesoamericana*, 22(2):351–357.
- Alvares, C.A., Stape, L.J., Sentelhas, P.C., Gonçalves, J.L.M.V., Sparovek, G. (2013) Koppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologists Zeitschrift*, 22(6):711–728.
- Andrade, D.B., Oliveira, A.S., Pinto, C.A.G., Pires, R.M.O., Oliveira, A.S., Silva, M.A., Carvalho, M.L.M. (2016) Detection of green seeds in soybean lots by the seed analysis system (SAS). *International Journal of Current Research*, 8(2):26462–26465.
- Andriazzi, C.V.G., Rocha, D.K., Souza, I.C.P.S., Bichuette, S.A. (2020) Evaluation of physiological quality of corn seeds by GroundEye L800® system. *Revista Agroambiente*, 14:1-10.
- Aroucha, E.M.M., Silva, R.F., Oliveira, J.G., Viana, A.P., Gonzaga, M.P. (2005) Época de colheita e período de repouso dos frutos de mamão (*Carica papaya* L.) cv Golden na qualidade fisiológica das sementes. *Ciência Rural*, 35(3):537-543.

- Bay, H., Tuytelaars, T., Van Gool, L. (2006) SURF: Speeded Up Robust Features. *European Conference on Computer Vision*, 1, Berlin, Heidelberg: Lecture Notes in Computer Science, v. 3951:404–417.
- Berbert, P.A, Carlesso, V.D.O, Silva, R.F., Araujo, E.F., Thiébaud, J.T.L., Oliveira, M.T.R. (2008) Qualidade fisiológica de semente de mamão em função da secagem e do armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes*, 30(1):40–48.
- Bespalhok, F.J.C., Guerra, E.P., Oliveira, R. (2016) Noções de genética quantitativa. In: *Melhoramento de plantas*. p 15–18.
- Borém, A., Miranda, G.V. (2013) *Melhoramento de plantas*. 6.ed. Viçosa, MG. Editora UFV, 523p.
- Borth, M.R., Pistori, H., Gonçalves, A.B., Freitas, U. (2013) Análise da extração de atributos do algoritmo SURF em espécies de peixe. *6º Seminário Internacional de Integração e Desenvolvimento Regional*, Ponta Porã, MS, p.1–10.
- Buides, J.A.F., Álvarez, A.G., La Fé, P.L.C., Sánchez, G.G. (2017) Aspectos anatómicos y viabilidad de semillas de papaya (*Carica Papaya* L.) variedad “Maradol Roja” sometidas a almacenamiento prolongado. *Agrotecnia de Cuba* 41(1):41–51.
- Brasil (2009) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Regras para Análise de Sementes. MAPA/ACS, 395p.
- Bhering, L.L. (2017) Rbio: A tool for biometric and statistical analysis using the R platform. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 17(2):187–190.
- Cardoso, D.L., Silva, R.F., Pereira, M.G., Viana, A.P. (2009) Diversidade genética e parâmetros genéticos relacionados à qualidade fisiológica de sementes em germoplasma de mamoeiro. *Revista Ceres*, 56(5):572–579.
- Carlesso, V.D.O., Berbert, P.A., Silva, R.F., Thiébaud, J.T.L., Oliveira, M.T.R. (2009) Germinação e vigor de sementes de mamão (*Carica papaya* L.) cv. Golden secadas em altas temperaturas. *Revista Brasileira de Sementes*, 31(2):228–235.
- Carvalho, S.M.C., Torres, S.B., Sousa, E.C., Sousa, D.M.M., Pereira, K.T.O., Paiva, E.P., Matias, J.R., Santos, B.R.V. (2018) Viability of *Carica papaya* L. Seeds by the tetrazolium test. *Journal of Agricultural Science*, 10(2):335-340.
- Carvalho, N.M., Nakagawa, J. (2012) *Sementes: Ciência, tecnologia e produção*. 5. ed. Jaboticabal. Funep, 590p.

- Catão, H.C.R.M., Caixeta, F. (2017) Physiological, isozyme changes and image analysis of popcorn seeds submitted to low temperatures. *Journal of Seed Science*, 39(3):234–243.
- Chávez-Pesqueira, M., Núñez-Farfán, J. (2017) Domestication and genetics of papaya: A Review. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 5:155.
- Chow, Y.J. (1991) *p*-Hydroxybenzoic acid as the major phenolic germination inhibitor of papaya seed. *Seed Science and Technology*, 19:167–174.
- Corso, M., Perreau, F., Mouille, G., Lepiniec, L. (2020) Plant science specialized phenolic compounds in seeds: structures, functions, and regulations. *Plant Science* 296:110471.
- Cotrut, R.C., Butcaru, A., Mihai, C., Stănică, F. (2017) *Carica papaya* L. cultivated in greenhouse conditions. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology*, 21:130–136.
- Cruz, C.D. (2016) Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. *Acta Scientiarum - Agronomy*, 38(4):547–552.
- Dantas, J.L.L., Oliveira, E.J., Pereira, M.G., Cattaneo, L.F. (2011) Melhoramento genético do mamoeiro no Brasil. *Simpósio do papaya brasileiro*, 5., Porto Seguro. Inovação e sustentabilidade: anais. Embrapa Mandioca e Fruticultura, 1-23.
- Dias, M.A., Dias, D.C.F.S., Lima e Borges, E.E., Dias, L.A.S. (2015) Qualidade e compostos fenólicos em sementes de mamão alterados pela colheita e maturação dos frutos. *Ciência Rural*, 45(4):737-743.
- Dias, M.A., Dias, D.C.F.S., Gomes-Junior, F.G., Cícero, S.M. (2014) Morphological changes and quality of papaya seeds as correlated to their location within the fruit and ripening stages. *IDESIA*, 32(1):27-34.
- Dias, N.L.P., Oliveira, E.J., Dantas, J.L.L. (2011) Avaliação de genótipos de mamoeiro com uso de descritores agronômicos e estimação de parâmetros genéticos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46(11):1471–1479.
- Duarte, F.E.V.O., Barros, D.R., Girardi, E.A., Soares Filho, W.S., Passos, O.S. (2013) Polyembryony and morphological seed traits in citrus rootstocks. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35(1):246-254.
- Durmus, D. (2020) CIELab color space boundaries under theoretical spectra and 99 test color samples. *Color Research and Application*, 45(5):796–802.

- Ellis, R.H., Hong, T.D., Roberts, E.H. (1991) Effect of storage temperature and moisture on the germination of papaya seeds. *Seed Science Research*, 1(1):69–72.
- Fachi, L.R., Krause, W., Vieira, H.D., Araujo, D.V., Luz, P.B., Viana, A.P. (2019) Digital image analysis to quantify genetic divergence in passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds. *Genetics and Molecular Research*, 18(3):gmr18331.
- FAO - Food and Agriculture Organization. Corporate statistical database (2022) Available at: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Access in: JAN. 2023.
- Ferreira, A.F.N., Krause, W., Faleiro, A.C., Miranda, A.F., Acha, A.J. (2018) Seleção de descritores de sementes de maracujazeiro azedo utilizando fenotipagem digital. *Agrarian Academy*, 5(10):181–190.
- Ferreira, O.J.M., Rocha, L.A.S., Silva-Mann, R., Torres, M.F.O. (2020) Tecnologia de análise de imagens para a seleção de sementes crioulas de milho. *Global Science and Technology*, 13(2):28-38.
- Ferreira, B.E., Cavalcanti, P.P., Nogueira, D.A. (2022) *Pacote Experimental Designs* (Português), p.68.
- Fiorani, F., Schurr, U. (2013) Future scenarios for plant phenotyping. *Annual Reviews Plant Biology*, 64:267-291.
- Fuentes, G., Santamaría, J.M. (2014) *Papaya (Carica papaya L.): Origin, Domestication, and Production*. In: *Genetics and Genomics of Papaya*. Springer New York, p 3–15.
- IBGE (2021) Levantamento Produção Agrícola. In: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1613>. Acesso em: jan, 2021.
- IBPGR - International Board for Plant Genetic. (1988) Descriptors for Papaya. International Board for Plant Genetic. 34p.
- Jesus, V.A.M., Araújo, E.F., Santos, F.L., Alves, E., Dias, L.A.S. (2015) Sodium hypochlorite for sarcotesta remotion from papaya seeds: anatomical studies. *Journal of Seed Science*, 37(4):228–235.
- Jesus, V.A.M., Araújo, E.F., Santos, F.L., Dias, L.A.S., Silva, R.F. (2016) Sodium hypochlorite for removal of the sarcotesta from newly extracted and stored papaya seeds. *Journal of Seed Science*, 38(8):358–364.

- Kehel, Z., Sanchez-garcia, M., Baouchi, A.E, Aberkane, H. (2020) Predictive characterization for seed morphometric traits for genebank accessions using genomic selection. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8(32):1–11.
- Krause, W., Viana, A.P., Cavalcante, N.R., Ambrosio, M., Santos, E.A., Vieira, H.D. (2017) Digital phenotyping for quantification of genetic diversity in inbred guava (*Psidium guajava*) families. *Genetics and Molecular Research*, 16(1): gmr16019474.
- Krzyzanowski, F.C., Vieira, R.D., França-Neto, J.B., Marcos-Filho, J. (2020) *Testes de vigor: Importância e utilização*. In: Vigor de sementes: Conceitos e Testes. ABRATES, Londrina, p 17–77.
- Li, L., Zhang, Q., Huang, D. (2014) A review of imaging techniques for plant phenotyping. *Sensors*, 14:20078–20111.
- Lima, J.M.E., Smirderle, O.J., Oliveira, J.A., Carvalho, M.L.M. (2018) Técnicas de análise de imagem para caracterização da qualidade de sementes de Paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth). *Ciência Florestal*, 28(3):1202–1216.
- Luz, L.N., Pereira, M.C., Barros, F.R., Barros, G.B., Ferregueti, G.A. (2015) Novos híbridos de mamoeiro avaliados em condições de cultivo tradicional e no semiárido brasileiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 37(1):159–171.
- Macedo, C.M.P. (2012) Avaliação de híbridos elites de mamão (*Carica papaya* L.) e seus cruzamentos recíprocos, quanto a qualidade fisiológica de sementes e o potencial agrônomo. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 94p.
- Macedo, C.M.P., Pereira, M.G., Cardoso, D.L., Silva, R.F. (2013) Evaluation of seed physiological quality of papaya elite hybrids, their reciprocal crosses and parents. *Journal of Seed Science*, 35(2):190–197.
- Maguire J.D., (1962) Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2:176–177.
- MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Instrução normativa nº 42, de 17 de setembro de 2019. *Normas para a Produção e a Comercialização de Sementes e Mudanças de Espécies Olerícolas, Condimentares, Medicinais e Aromáticas*. Available at:

<https://sidago.agrodefesa.go.gov.br/site/adicionaispropios/protocolo/arquivos/1088820.pdf>. Access in: JAN.2023.

- Martins, G.N.; Silva, R.F.; Araújo, E.F.; Pereira, M.G.; Vieira, H.D.; Viana, A.P. (2005) Influência do tipo de fruto, peso específico das sementes e período de armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de mamão do grupo formosa. *Revista Brasileira de Sementes*, 27:12–17
- Melo, A.P.C., Seleguini, A. (2013) Estádio de maturação de frutos e remoção física da sarcotesta na produção de mudas de mamão. *Comunicata Scientiae*, 4(1):20–25.
- Melo, A.P.C., Seleguini, A, Pereira, J., Neto, A.R., Wisintainer, C., Neves, R.G., Camilo, Y.M.V. (2015) Maturação de frutos e tratamento pré-germinativo na produção de mudas de mamão. *Revista de Ciências Agrárias*, 38(3):330-337.
- Mengarda, L.H.G., Lopes, J.C., Zanotti, R.F., Alexandre, R.S. (2015) Desempenho de genótipos de mamoeiro quanto à qualidade física e fisiológica de sementes e análises de diversidade. *Bioscience Journal*, 31(3):719–729.
- Moraes, R., Vivas, M., Vivas, J.M.S., et al (2019) Genetic parameters and performance of papaya genotypes to black spot resistance (*Asperisporium caricae*). *Australian Journal of Crop Science*, 13:649–655.
- Nerling, D., Coelho, C.M.M., Nodari, R.O. (2013) Genetic diversity for physiological quality of seeds from corn (*Zea mays* L.) intervarietal crossbreeds. *Journal of Seed Science*, 35(4):449–456.
- Pereira, M.G., Luz, L.N., Santa-Catarina, R., Ramos, H.C.C., Pereira, T.N.S., Barros, G.B., Ferregueti, G.A., Vivas, M., Cortes, D.F.M., Vettorazzi, J.C.F., Azecedo, A.O.N., Silveira, S.F., Oliveira, J.G., Viana, A.P. (2019a) UC10: a new early Formosa papaya cultivar. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 19(1):131–134.
- Pereira, M.G., Poltronieri, T.P.D.S., Pereira, T.N.S., Ramos, H.C.C., Catarina, R.S., Vettorazzi, J.C.F., Arêdes, F.A.S., Boechat, M.S.B., Venâncio, T.M., Azevedo, A.O.N., Cortes, D.F.M., Moreira, N.F., Bohry, D., Felipe, S., Vivas, M., Ferregueti, G.A. (2019b) Twenty-two-year papaya breeding program: From breeding strategy establishment to cultivar. *Functional Plant Breeding Journal*, 1(2):9–27.
- Pereira, M.G., Luz, L.N., Santa-Catarina, R., Ramos, H.C.C., Pereira, T.N.S., Barros, G.B., Ferregueti, A.G., Cortes, D.F.M., Vettorazzi, J.C.F., Azecedo, A.O.N., Silveira, S.F., Oliveira, J.G., Viana, A.P. (2019c) 'UC14': a new papaya

- cultivar with intermediate fruit size. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 19, p. 226–229.
- Pinto, C.A.G., Carvalho, M.L.M., Andrade, D.B., Leite, E.R., Chalfon, I. (2015) Image analysis in the evaluation of the physiological potential of maize seeds. *Revista Ciência Agronômica*, 46(2):319–328.
- Pirovani, A.A.V., Ramos, H.C. C., Duarte, R P., Miranda, D.P., Bohry, D., Santana, J.G.S., Santos, P.H.A.D., Pereira, M.G. (2020) Molecular characterization of elite lines of papaya (*Carica papaya* L.) via SSR markers. *Functional Plant Breeding Journal*, 3(1):49–58.
- Pirovani, A.A.V.; Ramos, H.C.C.; Santa-Catarina, R.; Miranda, D.P.; Rodrigues, A.S.; Vettorazzi, J.C.F.; Silva Junior, I.R.; Pereira, M.G.; Viana, A.P. (2022) Is there a possibility to improve a developed hybrid? A current demand on papaya (*Carica papaya* L.). *Euphytica*, 218:64.
- Rodrigues, C.A., Vieira, H.D., Sousa, R., Mendes, D.S., Viana, A.P. (2023) Genetic gain in *Passiflora* seed traits from recurrent selection among full-sib families. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 23(1): e44302319.
- Santos, E.R., Barros, H.B., Capone, A., Melo, A.V., Cella, A.J.S., Santos, W.R. (2012) Divergência genética entre genótipos de soja com base na qualidade de sementes. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 7(2):247–254.
- Santos, S.A., Silva, R.F., Pereira, M.G., Alves, E., Machado, J.C., Borém, F.M., Guimarães, R.M., Marques, E.R. (2009) Estudos morfo-anatômicos de sementes de dois genótipos de mamão (*Carica papaya* L.). *Revista Brasileira de Sementes*, 31(2):116–122.
- SAS Institute (2009) *Statistical Analysis System: User's Guide*. SAS, Cary, 5140p.
- Serrano, L.A.L., Cattaneo, L.F. (2010) O cultivo do mamoeiro no Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32(3):657–959.
- Silva, C.A., Nascimento, A.L., Ferreira, J.P., Schmildt, O., Malikouski, R.G., Alexandre, R.S., Ferregueti, G.A., Schmildt, E.R. (2017) Genetic diversity among papaya accessions. *African Journal of Agricultural Research* 12(23):2041–2048.
- Singh, S.P., Sudhakar Rao, D.V. (2011) *Papaya (Carica papaya L.)*. In: *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits*. Elsevier, p 86-126e
- Singh, D. (1981) The relative importance of caracteres genetic divergence. *Indian Journal of Genetics & Plant Breeding*, 41:237–245.

- Smith, S.M., Brady, J.M. (1997) SUSAN - A New approach to low level image processing. *International Journal of Computer Vision*, 23(1):45–78.
- Süsstrunk, S., Buckley, R., Swen, S. (1999). Standard RGB color spaces. *Proc. IS T/SID 7th Color Imaging Conf*, 7, p.127–134.
- Souza, L.G.S., Andrade Neto, R.C., Silva, N.M., Uchôa, T.L. (2020) Avanços na propagação e cultivo do mamoeiro. *Applied Research & Agrotechnology*, 13, e5949.
- TBIT (2014) *Manual do usuário - SAS Sistema de Análise de Sementes*. Lavras, MG, 1ed. 250p.
- Torres, G.X., Viana, A.P., Vieira, H.D., Rodrigues, D.L., Santos, V.O. (2019) Contribution of seed traits to the genetic diversity of a segregating population of *passiflora* spp. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 79(2):288–295.
- Tokuhisa, D., Dias, D.C.F.S., Alvarenga, E.M., Hilst, P.C., Demuner, A.J. (2007) Compostos fenólicos inibidores da germinação em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). *Revista Brasileira de Sementes*, 29(3):180–188.
- Tokuhisa, D., Dias, D.C.F.S., Alvarenga, E.M., Dias, L.A.S., Marin, S.L.D. (2008) Época de colheita dos frutos e ocorrência de dormência em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). *Revista Brasileira de Sementes*, 30(2):75-80.
- Vale, L. Sérgio R., Martins, P.H.M., Félix, M.J.D., Winder, A.R.S., Marques, M.L.S., Assis, E. (2020) Métodos de remoção da sarcotesta para superação de dormência em sementes de mamão. *Brazilian Journal of Development*, 6(6):41161–41174.
- Vij, T., Prashar, Y. (2015) A review on medicinal properties of *Carica papaya* Linn. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(1):1–6.
- Webster, R.E., Waterworth, W.M., Stuppy, W., West, C.E., Ennos, R., Bray, C.M., Pritchard, H.W., (2016) Biomechanical, biochemical, and morphological mechanisms of heat shock-mediated germination in *Carica papaya* seed. *Journal of Experimental Botany*, 67(22):6373–6384.
- Xavier, J.B., Andrade, D.B., Souza, D.C., Guimarães, G.C., Resende, L.V., Guimarães, R.M. (2019) Morphological, chemical and physiological characterization of *Amaranthus* spp. *Seeds*, 41(4):478-487.

Xu, M., Rao, J., Chen, B. (2019) Phenolic compounds in germinated cereal and pulse seeds: Classification, transformation, and metabolic process. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(5):740-759.

APÊNDICES

Apêndice A

Tabela 1A. Descritores de Cor e Textura obtidos via fenotipagem digital de sementes de *C. papaya*. Dados fornecidos pelo *Groundeye*® System.

ID	Descritores de Cor	ID	Descritores de Textura
C01	Abaixo do Otsu: Canal azul	T01	Distância Lab: Média Fourier: Média de
C02	Abaixo do Otsu: Canal verde	T02	magnitudes
C03	Abaixo do Otsu: Canal vermelho	T03	Haralick: Média
C04	Abaixo do Otsu: CIELab: a	T04	Laws: ER
C05	Abaixo do Otsu: CIELab: b	T05	Laws: ES
C06	Abaixo do Otsu: CIELab: L	T06	Laws: EW
C07	Acima do Otsu: Canal azul	T07	Laws: LE
C08	Acima do Otsu: Canal verde	T08	Laws: LR
C09	Acima do Otsu: Canal vermelho	T09	Laws: LS
C10	Acima do Otsu: CIELab: a	T10	Laws: LW
C11	Acima do Otsu: CIELab: b	T11	Laws: RW
C12	Acima do Otsu: CIELab: L	T12	Laws: SR
C13	Brilho	T13	Laws: SW
C14	CIELab: a	T14	GLD
C15	CIELab: b	T15	GLNU
C16	CIELab: Concentração	T16	HGRE
C17	CIELab: Dispersão	T17	LRE
C18	CIELab: Dispersão de a	T18	LRHGE
C19	CIELab: Dispersão de b	T19	RLD
C20	CIELab: Dispersão de L	T20	RLNU
C21	CIELab: L	T21	SER
C22	Concentração da matiz	T22	SRHGE
C23	Dominância preta	T23	SFM: Medida do espaço de frequência
C24	Intensidade	T24	SFM: Medida do espaço de frequência modificado
C25	Luma		
C26	Luminosidade		
C27	Matiz		
C28	Predominante: Canal azul		
C29	Predominante: Canal verde		
C30	Predominante: Canal vermelho		
C31	Saturação		

ID = Identificação do descritor.

Tabela 2A. Descritores de geometria obtidos via fenotipagem digital de sementes de *C. papaya*. Dados fornecidos pelo *Groundeye*® System.

Identificação	Descritores de Geometria
G01	Afinamento
G02	Área
G03	Área convexa
G04	Circularidade
G05	Circularidade por fator de forma
G06	Circularidade por FFCg
G07	Circularidade por FFCm
G08	Complexidade da forma
G09	Compressão
G10	Convexidade do contorno
G11	Deformação do contorno
G12	Diâmetro contido
G13	Diâmetro de Feret
G14	Diâmetro máximo
G15	Diâmetro máximo lateral
G16	Diâmetro mínimo
G17	Distâncias convexas
G18	Distorção entre área e área convexa
G19	Esfericidade da forma
G20	Esfericidade da forma modificada
G21	Extensão
G22	Índice de variação vertical
G23	Irregularidade do contorno
G24	Mudança de segmentos de retas no perímetro
G25	Mudança no perímetro
G26	Número de quinas por Harris
G27	Número de quinas por Susan
G28	Perímetro
G29	Perímetro convexo
G30	Quociente de aspecto
G31	Rácio de modificação
G32	Retângulos circunscritos: Área média
G33	Retângulos circunscritos: Lado oposto à maior aresta
G34	Retângulos circunscritos: Lado oposto à menor aresta
G35	Retângulos circunscritos: Maior área
G36	Retângulos circunscritos: Maior aresta
G37	Retângulos circunscritos: Maior perímetro
G38	Retângulos circunscritos: Média das maiores arestas
G39	Retângulos circunscritos: Média das menores arestas
G40	Retângulos circunscritos: Menor área
G41	Retângulos circunscritos: Menor aresta
G42	Retângulos circunscritos: Menor perímetro
G43	Retângulos circunscritos: Perímetro médio
G44	Solidez do contorno
G45	SURF

Tabela 3A. Resultado da análise de variância de 15 descritores fenotípicos de sementes de 44 genótipos de *Carica papaya*, com as respectivas médias e coeficiente de variação (CV%).

Descritor	Quadrado médio		Média	CV (%)
	Genótipo	Resíduo		
C15	11,86 **	0,33	2,94	6,23
C14	2,08 **	0,01	2,51	3,18
C29	90,78 **	0,31	21,73	2,58
C06	10,06 **	0,59	8,15	2,98
C20	1,53 **	0,01	3,24	2,61
C23	0,02 **	0,00	0,10	0,57
C12	22,81 **	0,15	15,23	2,53
T16	327.423,39 **	1.170,11	840,00	4,07
G45	593,84 **	2,84	22,59	7,46
G37	0,11 **	0,00	2,03	1,12
G42	0,11 **	0,00	1,95	1,19
G10	0,01 **	0,00	0,08	0,84
G27	487,80 **	3,18	44,02	4,05
G07	0,01 **	0,00	0,65	1,11
G34	0,01 **	0,54	0,57	1,29

** Significativo a 1 e 5%. C15, CIELab: b; C14, CIELab: a; C29, Predominante: Canal verde; C06, Abaixo do Otsu: CIELab: L; C20, CIELab: Dispersão de L; C23, Dominância preta; C12, Acima do Otsu: CIELab: L; T16, HGRE; G45, SURF; G37, Retângulos circunscritos: Maior perímetro; G42, Retângulos circunscritos: Menor perímetro; G10, Convexidade do contorno; G27, Número de quinas por Susan; G07, Circularidade por FFCm e G34, Retângulos circunscritos: Lado oposto à menor aresta.

Tabela 4A. Média dos descritores fenotípicos de sementes (Cor, Textura e Geometria), obtidos via fenotipagem digital, em 44 genótipos de *C. papaya*, provenientes da Coleção de Germoplasma UENF/Caliman S/A.

Genótipos	Descritores fenotípicos														
	C15	C14	C29	C06	C20	C23	C12	T16	G45	G37	G42	G10	G27	G07	G34
<i>Sunrise Solo (SS-72/12)</i>	1.53	2.29	21.65	8.23	2.80	1.00	14.32	745.95	12.05	1.81	1.74	0.85	39.04	0.67	0.50
<i>Candy</i>	1.60	2.04	22.13	8.36	3.10	0.99	14.93	809.41	15.04	1.80	1.73	0.85	38.97	0.67	0.51
<i>Aliança</i>	2.97	2.58	21.49	8.33	3.80	0.97	16.40	901.74	27.60	2.00	1.92	0.83	46.88	0.66	0.56
<i>Candy R</i>	1.16	1.72	17.23	6.30	2.64	1.00	12.70	540.71	22.22	2.22	2.14	0.75	65.27	0.56	0.64
UCLD08-05II5	3.16	2.21	16.36	5.97	3.39	0.99	13.50	616.15	31.64	2.37	2.29	0.75	65.82	0.60	0.66
UCLD08-08II5	3.73	2.50	18.63	6.95	3.97	0.98	15.34	778.65	30.36	1.98	1.90	0.81	46.75	0.64	0.55
UCLD08-29II5	0.95	1.50	20.61	7.39	2.37	1.00	12.70	650.39	6.06	1.72	1.65	0.90	22.99	0.66	0.51
Caliman M5	1.86	2.37	23.25	9.02	2.95	0.99	15.42	888.72	13.32	1.87	1.80	0.87	34.22	0.70	0.52
<i>Sunrise Solo 783</i>	3.26	2.68	20.83	8.01	3.75	0.98	15.84	853.07	25.52	2.04	1.96	0.84	43.45	0.69	0.56
<i>Costa Rica</i>	3.91	3.06	21.30	8.63	4.12	0.95	17.60	968.32	35.77	2.09	2.01	0.86	39.80	0.69	0.58
<i>Triwan ET</i>	4.32	3.32	24.34	9.40	3.28	0.97	16.30	1001.72	19.68	2.07	1.99	0.86	38.36	0.69	0.58
<i>Grampola</i>	1.64	2.26	21.95	8.37	2.84	0.99	14.69	779.60	12.55	1.83	1.75	0.84	38.59	0.68	0.50
<i>Sunrise Solo</i>	2.06	2.37	22.12	8.57	3.09	0.99	15.46	846.29	16.75	1.99	1.91	0.86	37.16	0.68	0.55
Caliman AM (amarelinho)	3.65	2.59	22.11	8.57	3.67	0.98	16.29	925.14	26.16	2.03	1.95	0.87	35.66	0.70	0.56
Caliman SG (Super Golden)	2.88	2.47	22.16	8.58	3.40	0.99	15.88	896.65	20.32	1.88	1.81	0.87	34.26	0.71	0.52
Kapoho polpa amarela	3.89	2.92	22.27	8.95	3.78	0.96	17.27	989.13	39.23	2.18	2.09	0.86	42.37	0.65	0.63
Baixinho de Sta Amalha (BSA)	3.17	2.75	22.24	8.66	3.29	0.98	15.92	879.56	22.89	2.05	1.97	0.84	42.56	0.68	0.56
<i>Sunrise Solo TJ</i>	3.46	2.79	22.18	8.81	3.62	0.97	16.62	924.30	25.28	1.95	1.87	0.86	35.71	0.70	0.54
<i>Tailandia</i>	10.71	5.33	47.63	14.48	5.04	0.58	24.63	2287.94	80.51	2.46	2.39	0.80	70.04	0.65	0.68
<i>São Mateus</i>	2.63	2.21	19.71	7.41	3.34	0.99	14.57	746.72	23.95	2.27	2.17	0.81	50.59	0.65	0.62
Kapoho polpa vermelha	3.04	2.86	24.64	9.12	2.86	0.99	15.34	904.69	11.50	1.79	1.70	0.87	31.65	0.69	0.49
<i>Sunrise solo (Pro Tainung)</i>	2.69	2.51	21.93	8.51	3.33	0.99	15.67	870.51	19.66	1.99	1.91	0.87	34.28	0.71	0.55
Baixinho Super	4.30	3.12	22.82	8.71	3.70	0.97	16.52	957.37	27.49	2.10	2.03	0.86	37.46	0.70	0.58
M-4	2.97	2.69	22.63	8.58	3.16	0.99	15.48	861.01	18.52	2.00	1.92	0.85	39.38	0.67	0.56
Califlora 209	1.13	2.18	19.74	7.17	2.34	1.00	12.73	601.56	14.95	2.18	2.11	0.78	54.44	0.60	0.62
<i>Golden tipo formosa</i>	2.88	2.89	23.88	9.33	2.87	0.99	15.79	897.78	14.09	1.84	1.76	0.85	41.92	0.69	0.50

Tabela 4A, Cont.;

Genótipos	C15	C14	C29	C06	C20	C23	C12	T16	G45	G37	G42	G10	G27	G07	G34
STZ 03 pecíolo curto	2.73	2.57	21.78	8.47	3.16	0.99	15.53	830.33	19.11	1.98	1.90	0.86	38.02	0.70	0.54
STA Helena III TRA 02A PLT08	5.13	3.60	28.17	10.93	3.25	0.94	17.86	1228.01	20.65	1.95	1.85	0.86	41.11	0.69	0.53
STA Helena III TRA 14A PLT05	1.68	1.86	18.82	6.91	3.43	0.99	14.40	698.05	25.95	2.10	2.02	0.83	49.28	0.66	0.58
Papaya 46 claro	2.56	2.75	24.75	9.55	2.59	0.99	16.02	894.29	9.90	1.78	1.70	0.87	37.54	0.67	0.50
RN. Selecionado	3.95	3.05	23.95	9.41	3.50	0.96	17.15	1006.24	21.97	1.91	1.83	0.86	33.60	0.70	0.52
Criola de Costa Rica	0.86	1.78	18.92	6.87	2.48	1.00	13.13	578.70	14.05	1.95	1.88	0.77	49.42	0.57	0.56
B5 – Geraldo	3.76	3.21	23.03	9.06	3.41	0.97	16.36	941.69	23.14	2.09	2.00	0.85	40.61	0.68	0.58
Cimarron	3.69	2.70	24.74	10.10	4.66	0.91	19.92	1247.34	42.84	1.78	1.70	0.85	44.57	0.65	0.50
UCLA08-012	3.32	2.39	17.85	6.51	3.34	0.99	13.59	657.77	21.70	2.05	1.98	0.83	46.14	0.67	0.57
UCLA08-013	-0.10	1.06	17.85	6.13	2.42	1.00	11.41	524.30	11.01	1.95	1.87	0.76	46.38	0.57	0.55
UCLA08-080	2.95	2.31	18.21	6.73	2.93	0.99	13.68	638.51	24.00	2.24	2.17	0.77	59.45	0.58	0.65
UCLA08-088	4.19	2.39	18.98	6.70	3.83	0.98	14.56	733.21	32.24	2.18	2.11	0.78	62.03	0.62	0.61
UCLA08-092	4.60	3.10	20.91	8.08	3.34	0.98	15.32	812.24	31.36	2.15	2.07	0.77	69.10	0.56	0.63
UCLA08-097	4.92	3.13	21.15	7.96	3.58	0.97	15.44	856.11	29.29	2.13	2.04	0.82	51.47	0.65	0.60
UCLA08-101	0.72	1.18	16.69	5.68	2.19	1.00	11.24	459.90	11.71	2.13	2.06	0.68	47.60	0.53	0.59
THB	2.05	1.89	20.29	7.48	3.29	0.99	14.40	748.40	15.66	1.94	1.86	0.86	35.40	0.70	0.53
JS12 (206)	1.65	1.85	18.88	6.55	2.59	1.00	12.40	598.62	17.24	2.22	2.14	0.77	55.25	0.58	0.64
Vitória	1.02	1.27	15.31	5.03	1.90	1.00	9.76	382.97	9.07	2.26	2.20	0.71	22.40	0.55	0.65

C15, CIELab: b; C14, CIELab: a; C29, Predominante: Canal verde; C06, Abaixo do Otsu: CIELab: L; C20, CIELab: Dispersão de L; C23, Dominância preta; C12, Acima do Otsu: CIELab: L; T16, HGRE; G45, SURF; G37, Retângulos circunscritos: Maior perímetro; G42, Retângulos circunscritos: Menor perímetro; G10, Convexidade do contorno; G27, Número de quinas por Susan; G07, Circularidade por FFCm e G34, Retângulos circunscritos: Lado oposto à menor aresta.

Apêndice B

Table 1B. List of *C. papaya* L. microsatellite loci used for diversity analysis with their respective primer sequence, linkage group (LG), and annealing temperature (AT).

Locus		Primer sequence	LG	AT (°C)
P3K2388C0 ¹	F	GCACACATAAAAATGTGCTTCG	1	60
	R	TGCAAAGTCTCTGCTTTCAAGA		
P3K418CC ²	F	CGTAAAGACTTGTTGCCTTACGC	1	60
	R	CCAAGACTTGCATAACGGCTC		
P3K6912CC ²	F	TGAAGCCTCAGTGAATCCAAA	2	60
	R	CCCATGGGAACACATCTATTG		
P3K1850CC ²	F	TTTCTCCACATGACCCACA	2	60
	R	GGGGGTGCTTTGGAATCTTT		
CPM746LCC ²	F	TTATGTTTGGGAAGAACGCC	3	60
	R	GCCAATTCCCCACAAATCTA		
CPM1621CC ²	F	ATGGTAACCCAGCGTGAGGA	3	60
	R	ACGCCAAATATTCCCAACCC		
CPM765LCC ¹	F	CAACGCTCTCCCTCTCTCTC	3	60
	R	AACTCTGACCCATGACCAGC		
P6K25CC ²	F	TTCAATACCTTTTGTGGAAACCT	4	60
	R	TGCCATAGCCTCTCTTCTG		
P3K3968A5 ¹	F	TGCGATCGAAAGGTTCTTGAG	4	60
	R	TGGAAATGGCTGGTTTTGTCA		
P3K2152CC ²	F	CTCCAAGAAAACCTTTGACATGGG	5	60
	R	CAATTATGAGCCGGTCACTAACAA		
ctg-365A5 ²	F	TTCTTTACCCGCTCCTCTG	5	60
	R	AAACAACCTCGGCCCAACTGA		
P3K3256CC ¹	F	CGACAAGGAAATTAAGCCAAATC	5	60
	R	ATGACCGTGTGGTTGCTG		
P3K5113C0 ²	F	CGAAAACCTCTCAGGCGCATC	6	60
	R	CCCCATCTACTCTCCCATCA		
CPM1846CC ¹	F	GCCCACACTCTTGATGGGAC	7	60
	R	TCGAGAAAGTCCCATCCTTAACA		
ctg-456CC ¹	F	TGAATTCAAATGCTGCCTCAG	7	60
	R	GGACCTATCAGTTCAACTTCCCA		
CPM766CC ¹	F	TACCAAGTTCAGCAAGCGGT	8	50
	R	ATACTTTCTCCCCCTTCGGA		
P3K3828CC ¹	F	CCTGCTTCGTTGGAATTTGG	9	60
	R	ACAGAAATAAAAGGCGGGGG		
P3K7484C0 ¹	F	CGGTAGCGACTCATCGGACT	10	60
	R	TTGACTCGCGAGGAAAGGAG		
P3K149C0 ²	F	TGGTGGATGTTGATGCATGTT	11	60
	R	TCTGGTGGTCATGATGGTGG		

Table 1B, Cont.;

Locus		Primer sequence	LG	AT (°C)
P3K3510C0 ¹	F	GTAGCCGAACGCACAACACA	12	60
	R	CGTGTAAGAAGCGGTAGATCG		
CPM1554C2 ²	F	TTGACGAATTCAAACCCATGC	1	60
	R	CACCTCGTGGCATCAAACAA		
P6K1472C0 ¹	F	GAAGGAGCATCCATCGCAAC	1	60
	R	CCAGTCCATTTTCCAGCCAA		
P6K1117CC ²	F	GAACAGGAGGGTTGCTGGTG	1	55
	F	CATTCCAGCTACTCAGGCGG		
P6K1268CC ²	R	GCAGTCTCTTCTCTCCAAGGTCA	2	55
	F	GTCCCCTTAGCTGCATCCAC		
P6K624CC ¹	R	AAAGATGACCGGAGCCGT	2	50
	F	GCTCTCTGGTAAGAGAGATTGTGG		
P3K3407CC ²	R	TGTACGGCCTGAAATTCTTCC	3	55
	F	GCTGGGTGTCTGTCTTGCTG		
ctg-164CC ¹	R	ACCCAAGGTTGGTGCTTTT	4	55
	F	GCGGTGCCCTATTATTTGA		
P6K128CC ²	R	GCCGGCTCAGGAGGTTAAGA	4	50
	F	CAATGACCAAACGCCACACA		
CPM681CC ¹	R	AAGCTAGGCTTGGGCTGGAC	5	55
	F	CCGTGATGACGTGACGTGTAA		
P3K1382A5 ²	R	ACAAATCCAGCAAATATCCCATT	6	60
	F	CAACATCTCAATTTGCAAAGCA		
P6K71CC ²	R	GGCTCTCTGTCTCCACCT	6	50
	F	CCTCGTCACCGGTTTGATCT		
ctg-148C0 ¹	R	GAATTTTAGCGCGAAGTGAGC	7	60
	F	CTCAACAATCGACATTGAGAAGC		
ctg-41S5 ²	R	TTCATCGTCTCGCTGAAATTGA	7	60
	F	CCAGTAGGCTCTCCAAATGGG		
P3K3511CC ²	R	CCCACGAGTCACAGGGTTTC	7	60
	F	GGTTATGCTCGGCCAAAATG		
P3K170CC ²	R	CAATGGAGGGCAGTTTTGATG	8	60
	F	TGGGAGAAAAGGAAAGAACATGA		
P6K900CC ²	R	TTTGGATCTTGTGGGTTCCGG	8	50
	F	GGAAGAGGAGATGTGAAAACGG		
P3K178CC ¹	R	AACCAGAACTCCAAAAGAAATCC	9	50
	F	AACTGGACGCGTATGGAATG		
P6K710A5 ¹	R	TTTGTAGAAAGGCTTTGGTTGAGA	11	50
	F	CGAGCACGACTGAAAGCAAG		
P3K7344CC ¹	R	GGATTCTTTTGGGGTCATGGA	12	60
	F	GAGCAGTGCATGTGCGGTAA		
P3K2530CC ¹	R	TTCCCCTTCTTTGACAGCA	1	55
	F	CAAGTGCTCTGCCATTGTGG		
ctg-335CC ¹	R	GATTCCTGTTGGTCGTTGGC	2	60
	F	TGGTGCATGTATGATGAATGTGA		
P8K190CC ¹	R	GTGAGAAAGCCAACGCCAAT	3	50
	F	GGACTAAAATTCAAGGTACCCA		
P3K4489CC ²	R	ATTTGACGTGGCAGCACCTT	3	60
	F	AAGACGGTGCCGTATAAGCG		

Table 1B, Cont.;

Locus		Primer sequence	LG	AT (°C)
P3K86CC ²	R	GTTGTTCTGTCCACCCCCAC	4	55
	F	CACCCGTGACGAGCAACAT		
P8K187CC ²	F	GCGAGGTGGGCAGTAAAGAA	5	60
	R	TTCACGTA CTTGATTGGCGTTTT		
P3K3490CC ²	F	GGTTGGATTGCTTTGCCTTAAA	6	55
	R	GGTACATACACACATGCACAAGCA		
ctg-371CC ¹	F	TGCACACATATGATTCTTTGCTT	6	60
	R	AACTCCATCACATTCCCCTTCT		
ctg-203C0 ²	F	CTTTTGCCCTTTCTCTCCG	6	60
	R	TGCCCTGATCTCTTTCTCATC		
P3K2851CC ¹	F	TAGAAGCAGATGCGGAGGGA	7	55
	R	TCCAGACCCAAAAACCCAAA		
P3K7483A5 ²	F	GCAGCCCGTACAGAAGAGGA	8	60
	R	CTCTGAGCAGCAAGCCAACA		
P6K1498CC ¹	F	AGTCAAACATCGGCTTGCGT	8	60
	R	CCAACCTTGTGCTGCCCTC		
P3K2305CC ¹	F	GGTGGTGATTACAAGTGGG	8	55
	R	ATGGTCCCAGAAATGTGCAA		
P3K4272CC ²	F	TTTCGTCACATCAGACCAAGC	9	60
	R	TAGTCCATGCGAAAATACACGTT		
P3K7598CC ¹	F	GTGGACCCCTGCAAAGTTG	10	60
	R	GAGATCTCGTGCAGAATTCAAGG		
ctg-718CC ²	F	CCAACCTCACACCATTTGCCA	11	60
	R	TTGACAAGGGACCAGTCGTG		
P3K917C0 ²	F	CACACACTCGCAATGGTAAAGAA	12	60
	R	TGCAGAGCACATTGAGAGGG		

¹Monomorphic primers; ²Polymorphic primers; AT, annealing temperature in °C; LG, linkage group; F, forward; R, reverse.

Table 2B. Membership coefficient of 44 *Carica papaya* genotypes as obtained by the UPGMA clustering method, based on microsatellite markers.

Genotype	Membership coefficient	
	Cluster 1	Cluster 2
	----- % -----	
Candy Reciprocal	0	100
Sunrise Solo SS 72/12	100	0
Aliança	100	0
UCLD08-05II5	0	100
UCLD08-08II5	0	100
UCLD08-29II5	0	100
Caliman M5	100	0
Sunrise Solo 783	100	0
Costa Rica	100	0
Triwan ET	100	0
Grampola	100	0
Sunrise Solo	100	0
Caliman AM (amarelinho)	100	0
Caliman SG (Super Golden)	100	0
Kapoho polpa amarela	100	0
Baixinho de Sta Amalha (BSA)	100	0
Sunrise Solo TJ	100	0
Tailandia	0	100
São Mateus	100	0
Kapoho polpa vermelha	100	0
Sunrise solo (Pro Tainung)	100	0
Baixinho Super	100	0
M-4	100	0
Califlora 209	0	100
Golden tipo formosa	0,46	99,54
STZ 03 Pecíolo curto	100	0
STA Helena III TRA 02A PLT 08	12,3	87,7
STA Helena III TRA 14A PLT 05	0	100
Papaya 46 claro	97	3
RN. Selecionado	100	0
Crioula de Costa Rica	0	100
B5 – Geraldo	100	0
Cimarron	0	100
JS12	0	100
Candy	0	100
UCLA08-012	0	100
UCLA08-080	0	100
UCLA08-088	0	100
UCLA08-092	0	100
UCLA08-097	0	100
UCLA08-101	0	100
Sekati	0	100
THB	100	0
Vitória	0	100