

**ÍNDICES MULTIVARIADOS E BLUP MULTISAFRAS NA SELEÇÃO  
DE GENÓTIPOS DE GOIABEIRA**

**CLAUDIA LOUGON PAIVA DE ALMEIDA**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO – UENF**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
MARÇO– 2017**

ÍNDICES MULTIVARIADOS E BLUP MULTISAFRAS NA SELEÇÃO  
DE GENÓTIPOS DE GOIABEIRA

**CLAUDIA LOUGON PAIVA DE ALMEIDA**

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

Orientador: Prof. Alexandre Pio Viana

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
MARÇO - 2017

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCH / UENF

016/2017

A447 Almeida, Claudia Lougon Paiva de.

Índices multivariados e blup multisafras na seleção de genótipos de goiabeira / Claudia Lougon Paiva de Almeida – Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

86 f.

Orientador: Alexandre Pio Viana.

Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2017.

Bibliografia: f. 70 – 86.

1. *Psidium guajava*. 2. Métodos de Seleção Genética em Plantas. 3. Goiaba – Cruzamento Genético. 4. Marcadores Microsatélites. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD – 634.421

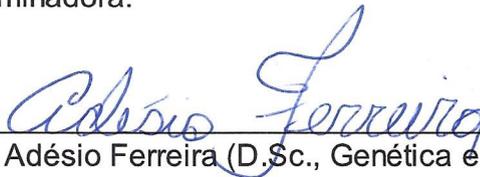
ÍNDICES MULTIVARIADOS E BLUP MULTISAFRAS NA SELEÇÃO  
DE GENÓTIPOS DE GOIABEIRA

**CLAUDIA LOUGON PAIVA DE ALMEIDA**

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

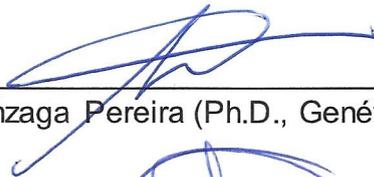
Aprovada em 16 de março de 2017.

Comissão Examinadora:



---

Prof. Adésio Ferreira (D.Sc., Genética e Melhoramento) - UFES



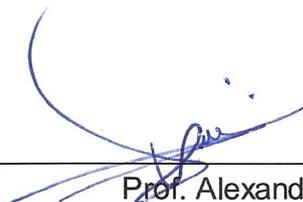
---

Prof. Messias Gonzaga Pereira (Ph.D., Genética e Melhoramento) – UENF



---

Prof. Antônio Teixeira do Amaral Júnior (D.Sc., Genética e Melhoramento) UENF



---

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

## **DEDICATÓRIA**

A Deus, por estar comigo em todos os momentos;  
Ao meu pai e minha mãe, que sempre sonham comigo os meus sonhos.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por estar sempre ao meu lado, guiando e orientando em todas as minhas decisões, dando-me sabedoria em todo o tempo. Até aqui me ajudou o Senhor;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Programa de Genética e Melhoramento de Plantas pela oportunidade de realizar o curso no Brasil e no exterior;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa no exterior;

À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro pela concessão da bolsa de estudos;

Ao Professor Alexandre Pio Viana, que aceitou me orientar, acreditou e confiou em mim e me encorajou nos momentos mais difíceis, dizendo sempre que 'se fosse fácil todos faziam'. E me incentivou a fazer o Doutorado Sanduíche, mostrando sempre que não seria fácil, mas que valeria a pena;

À Professora Rosana Rodrigues, que acreditou em mim e fez tudo o que podia para que eu fosse para uma das melhores universidades dos EUA no que se refere ao melhoramento de plantas;

À Marcela, que sempre com toda paciência auxiliou nos trabalhos do laboratório e, também, como uma grande amiga esteve sempre pronta para aconselhar;

Ao Daniel, que desde quando me viu pela primeira vez me ajudou e incentivou, com palavras de ânimo, auxiliando e chamando a atenção sempre que necessário;

À *North Dakota State University* (NDSU), por ter me acolhido e dado todo o suporte para que a minha estadia em Fargo fosse tranquila;

Ao Dr. Richard Horsley, por ter aceitado me orientar por um ano, sendo sempre muito compreensivo e hospitaleiro, confiando no meu trabalho e ensinando sempre alguma palavra nova, proporcionando todo o suporte tanto quanto a estadia quanto ao aprendizado, além de receber com todo carinho minha família quando foi até Fargo me visitar;

A todas as pessoas que Deus colocou nesta etapa da minha vida: Eileen, que sempre me ensinou que as dificuldades são impostas para rompê-las; Crystal e Amber, que estiveram comigo nos momentos mais importantes em Fargo, me incentivando a estar sorrindo em todos os momentos e nunca me deixaram só em Fargo;

Aos amigos do laboratório que colaboraram com este trabalho: Eileen, Jôsie, Daniele, Bianca, Silvana, Sandra, Paulo Ricardo, Nárdelio, Carlos Misael;

Aos amigos que fiz na UENF: Aline, Carlos Diego, Gabriele, Cintia Machado, Andréa Barros, Gislanne, Claudia Roberta, Bianca, Verônica, Lígia;

Em especial, à minha família pelo apoio e compreensão ao longo de todo o curso, que entenderam todos os momentos em que não pude estar presente;

Ao meu pai Luiz Claudio, por tudo que sou e conquistei, pelos incentivos em todas as minhas decisões, pelos ensinamentos de vida, pelo exemplo de determinação e principalmente por me mostrar que com as coisas simples podemos resolver todas as coisas;

À minha mãe Marisa, pelo carinho, amor e cuidado, estando sempre ao meu lado, pelas longas conversas ao telefone estando sempre presente, apesar da distância, não medindo esforços para me visitar nos EUA, visita essa que muito me fortaleceu e mostrou-me o quão forte eu era;

Aos meus irmãos, Leda e Saulo, pela companhia, amizade, carinho e acolhida na volta para casa;

Ao meu esposo, Maycon, que esteve sempre presente, dando força e apoiando em todas as minhas escolhas, sendo quem mais me incentivou a seguir para o doutorado sanduíche. E em nenhum momento mediu esforços para fazer todas as minhas vontades;

E a todos que sonharam junto comigo e acreditaram que esta realização seria possível.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	viii
ABSTRACT .....	x
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVOS .....	5
3. CAPÍTULOS.....	6
3.1 GANHO GENÉTICO ESTIMADO POR DIFERENTES CRITÉRIOS DE SELEÇÃO EM PROGÊNIES DE GOIABEIRA .....	6
3.1.1 INTRODUÇÃO .....	6
3.1.2 REVISÃO .....	8
3.1.2.1 Família Myrtaceae .....	8
3.1.2.2 A goiabeira – <i>Psidium guajava</i> .....	9
3.1.2.3 Importância econômica.....	10
3.1.2.4 Melhoramento da goiabeira .....	11
3.1.2.5 Melhoramento da goiabeira na UENF .....	13
3.1.2.6 Seleção entre e dentro de progênies.....	15
3.1.3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1.3.1 Material Vegetal.....	17
3.1.3.2 Análise estatística.....	18
3.1.3.3 Seleção direta e indireta .....	20

3.1.3.4 Índice Clássico .....	20
3.1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	21
3.1.5 CONCLUSÃO .....	29
3.2 SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE GOIABEIRAS COM BASE NA AVALIAÇÃO DE MULTISAFRAS: ESTIMATIVAS DO COEFICIENTE DE REPETIBILIDADE, PRODUTIVIDADE, ESTABILIDADE E ADAPTABILIDADE VIA MODELOS MISTOS .....	30
3.2.1 INTRODUÇÃO .....	30
3.2.2 REVISÃO .....	32
3.2.2.1 Seleção de genótipos via REML/BLUP em plantas perenes .....	32
3.2.2.2 Análise de medidas repetidas via modelos mistos .....	34
3.2.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.2.3.1 População estudada.....	35
3.2.3.2 Variáveis avaliadas.....	36
3.2.3.3 Análise estatística.....	36
3.2.4 RESULTADOS.....	39
3.2.5 DISCUSSÃO .....	48
3.2.6 CONCLUSÃO .....	53
3.3 MONITORAMENTO DE CRUZAMENTOS EM GOIABEIRA VIA MARCADORES MICROSSATÉLITES.....	54
3.3.1 INTRODUÇÃO .....	54
3.3.2 REVISÃO .....	55
3.3.2.1 Marcadores Microsatélites .....	55
3.3.2.2 Aplicações dos marcadores moleculares no melhoramento da goiabeira .....	56
3.3.2.3 Uso dos marcadores no monitoramento de cruzamentos .....	58
3.3.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	59
3.3.3.1 Extração de DNA genômico .....	59
3.3.3.2 Otimização da reação de PCR .....	60
3.3.3.3. Eletroforese capilar e Análise de locos SSR .....	63

3.3.4 RESULTADO E DISCUSSÃO .....	64
3.3.5 CONCLUSÃO .....	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70

## RESUMO

PAIVA, Claudia Lougon; DSc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Março, 2017; Índices multivariados e blup multisafras na seleção de genótipos de goiabeira Orientador: Alexandre Pio Viana; Conselheiros: Messias Gonzaga Pereira e Antônio Teixeira do Amaral Júnior

A cultura da goiaba ocupa importante espaço no agronegócio brasileiro. Isso se deve ao fato de o país possuir condições edafoclimáticas ideais para o cultivo desse fruto. No entanto, a goiabeira possui diversas peculiaridades por ser uma espécie perene. O ciclo longo e o seu potencial expresso ao longo dos anos são algumas de suas características, o que torna questionável o número ideal de avaliações, isto é, quantas safras devem ser mensuradas para que se conheça o real potencial dos genótipos. Neste sentido, o objetivo do trabalho foi comparar diferentes métodos de seleção entre e dentro de progênies, utilizando a seleção direta e indireta, o índice de seleção e os modelos mistos, a fim de estimar os parâmetros genéticos, prever os ganhos genéticos, além de quantificar a repetibilidade das variáveis analisadas. Para isso, a tese foi dividida em três capítulos. O primeiro capítulo abordou a comparação do índice de seleção e a seleção direta e indireta entre e dentro de progênies de irmãos completos; o segundo utilizou a abordagem dos modelos mistos para estimar a repetibilidade de caracteres referentes à produção no intervalo de quatro safras e indicar genótipos promissores; e no terceiro capítulo foi realizado o monitoramento, via marcador microssatélite dos cruzamentos obtidos pelos genótipos selecionados. O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados com duas repetições, sendo avaliadas 10

progênies de irmãos completos e 12 plantas por parcela. Para a predição de ganho genético, entre e dentro de progênies, foram utilizadas a seleção direta e indireta e o índice clássico com dois pesos econômicos. Em relação às análises via modelos mistos, os parâmetros genéticos foram estimados pela máxima verossimilhança restrita (REML), sendo os melhores genótipos ranqueados pelo melhor preditor linear não viesado (BLUP). Foram avaliadas quatro safras para estimar o coeficiente de repetibilidade. Onze indivíduos que apresentaram maior potencial produtivo foram escolhidos como genitores a fim de dar origem ao novo ciclo de famílias de irmãos-completos, sendo obtidos oito cruzamentos e confirmados via marcadores microssatélites. As análises permitiram observar que as estimativas de correlação genotípica foram superiores às fenotípicas, o que sugere a existência de pleiotropia ou genes ligados, sendo encontrada correlação negativa quando comparado a produção total e formato do fruto e rendimento da polpa. A seleção direta proporcionou maiores ganhos para a produção total e para a espessura da casca. Já no índice clássico, os ganhos foram distribuídos para todas as variáveis, sendo indicado como estratégia de seleção mais adequada para o melhoramento genético na população estudada. Em relação à abordagem via modelos mistos, o coeficiente de repetibilidade para produção total foi alto por se tratar de espécie perene. Foram preditas pelo menos cinco mensurações no mesmo indivíduo para que haja precisão na seleção. Quando analisadas as progênies, ganhos genéticos expressivos foram obtidos, sendo que a progênie que mais se destacou apresentou ganho de 20% na variável produção total. Contudo, ao se selecionar os 30 melhores indivíduos foi possível verificar que o incremento no ganho predito foi superior ao obtido na análise em nível de progênie. Esses genótipos podem ser utilizados tanto como genitores em novos cruzamentos como para propagação clonal em plantios comerciais. Dos oito cruzamentos realizados, seis foram confirmados pelos marcadores microssatélites, porém dois deles foram oriundos de autofecundação. Em última análise, os resultados obtidos demonstram que as estratégias de seleção adotadas neste trabalho permitiram a identificação de genótipos promissores quanto à produtividade e com potencial para futuro lançamento de cultivar de goiaba.

## **ABSTRACT**

PAIVA, Claudia Lougon; DSc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; March, 2017; Multivariate indices and multisafra blup in the selection of guava genotypes. Advisor: Alexandre Pio Viana; Committee Members: Messias Gonzaga Pereira e Antônio Teixeira do Amaral Júnior

In Brazil, the guava crop occupies an important position in the agribusiness. This is because the country has ideal soil and climatic conditions for the cultivation of this fruit. However, because guava is perennial, its potential is expressed over the years, which makes the ideal number of evaluations questionable, that is, how many harvests must be measured in order to know the real potential of the genotypes. In this sense, the objective of the work was to compare different methods of selection between and within progenies using direct and indirect selection, selection index and mixed models. For this, we divided the thesis into three chapters. The first chapter is about the comparison of the selection index and the direct and indirect selection between and within progenies. The second used the mixed models approach to estimate the repeatability, adaptability and stability of characters related to production in the four harvest seasons and to indicate promising genotypes. In the third chapter, the microsatellite marker monitored the crosses. The experiment occurred in a randomized complete block design, with two replicates, being evaluated 10 progenies and 12 plants per plot. For the prediction of genetic gain, between and within progenies, we used the direct and indirect selection and the classical index with two economic weights. In relation to analyzes using mixed

models, the genetic parameters were estimated by the restricted maximum likelihood (REML), being the best genotypes ranked by the Best Unbiased Linear Predictor (BLUP). Selected eleven individuals who had the greatest productive potential as parents in order to give rise to the new cycle of full-sib families. Confirmation of these crosses occurred via microsatellite markers. The analyzes allowed to observe that the genotypic correlation estimates were superior to the phenotypic ones, which suggests that there are pleiotropy or linked genes, being a negative correlation when compared the total production and the other characteristics. The direct and indirect selection provided greater gains for the total production and the thickness of the bark. In the classical index (Smith and Hazel), when attempts were used as economic weight, the best results were obtained in terms of gains in total production, being indicated as the most adequate selection strategy for the genetic improvement in the study population. In relation to the mixed models, the environmental variance was the one that contributed the most to the phenotypic variance, which generated low magnitude estimates for the individual heritability. In this analysis, the coefficient of repeatability found was relatively high, because we work with perennial plant. At least five measurements predicted in the same individual so that there is precision in the selection of promising guava varieties. The progenies analyzed obtained expressive genetic gains, and the progeny that stood out had a gain of 20% in the total production variable. However, when selecting the 30 best individuals, it was possible to verify that the increase in the predicted gain was superior to that obtained in the analysis at the progeny level. These genotypes can be used both as parent at new crosses and for clonal propagation in commercial plantations,. In relation to obtaining the new cycle of full-sib families, the markers were efficient to ratify the occurrence cross-pollination. Of the eight crosses performed, the microsatellite markers confirmed six crosses, but two were from self-fertilization. Ultimately, the results show that the selection strategies adopted in this work allowed the identification of promising genotypes regarding productivity and potential for future release of guava cultivar.

## 1. INTRODUÇÃO

A goiabeira (*Psidium guajava*), pertencente à família Myrtaceae, está alocada no gênero *Psidium*, o qual agrupa cerca de 150 espécies de árvores pequenas e arbustos, com apenas 20 espécies produzindo frutos comestíveis. No entanto, apenas a goiabeira, por sua importância econômica, é cultivada em grande escala (Oliveira et al., 2012). Amplamente distribuída em diversos países, especialmente em países de clima tropical e subtropical, a goiabeira é originária do México, Ilhas Caribenhas e América do Sul (Wilson et al., 2001; Mehmood et al., 2014).

Quanto à produção da goiaba, o Brasil encontra-se em posição de destaque e ocupa, atualmente, o terceiro lugar na escala de produção, atrás apenas da Índia e do Paquistão. Todavia, quando se trata exclusivamente de goiabas vermelhas, o Brasil é o maior produtor mundial (Pommer e Murakami, 2009; FAO, 2016). Ainda assim, sua exportação *in natura* é muito pequena, em especial, devido ao alto grau de perecibilidade. Por esse motivo os produtos derivados da goiaba, como a polpa, o suco concentrado, doces e geleias têm maior aceitação no mercado internacional. No primeiro semestre do ano de 2016 foram exportadas aproximadamente 95 toneladas de frutas *in natura*, proporcionando 218 mil dólares para a economia brasileira (IBRAF, 2016). Os pomares de goiabeira são encontrados em quase todos os estados brasileiros e são responsáveis por produção anual de 425 mil toneladas de goiaba. O estado de Pernambuco é o que possui a maior produção, seguido por São Paulo, Bahia e Rio de Janeiro (IBGE, 2016).

A goiaba é conhecida como maçã dos trópicos, possui sabor atraente e altos valores nutricionais (Khan et al., 2013), sendo rica em vitaminas A e C, potássio, magnésio, fibras e possui baixo valor calórico. São encontradas também altas quantidades de antioxidantes como carotenoides e flavonoides (Nimisha et al., 2013).

Existem diferentes formas de consumo da goiaba, na forma de fruta fresca, em que o consumidor busca por frutos maiores, de baixa acidez e alto teor de sólidos solúveis. Além disso, o processamento do fruto produz geleias, doces e sucos, para os quais a indústria de processamento exige frutos com uma coloração mais intensa, alto valor de sólidos solúveis e alta acidez. Dessa forma, o melhoramento da goiabeira deve visar tanto o mercado de frutas *in natura* quanto suprir as necessidades da indústria do processamento.

A propagação da goiabeira ocorre via sementes ou de forma vegetativa, sendo esta recomendada por gerar pomares homogêneos (Abbas et al., 2013), além de exigir menor tempo para o início da produção. Essas vantagens são de grande importância para o produtor, visto que possibilita resultados rápidos e consistentes. No entanto, algumas mudas são provenientes de sementes, o que origina pomares heterogêneos. Nesse cenário, as plantas não são capazes de manter a pureza genética devido à segregação e à recombinação gênica, o que geram pomares com ampla variabilidade, culminando em variações de características importantes sob o ponto de vista econômico e no manejo (Gomes Filho et al., 2010; Kareem et al., 2013). Não obstante, a variabilidade é de fundamental importância para o melhoramento, uma vez que é possível selecionar genótipos que possuam características de interesse agrônomo, mantendo a variabilidade da população.

A predição de ganhos genéticos muito tem auxiliado no melhoramento, sendo considerada uma das maiores contribuições da genética quantitativa. Diversas abordagens estatísticas de seleção têm sido propostas por pesquisadores no intuito de verificar qual delas proporciona os maiores ganhos para características de interesse e para a população estudada.

A forma mais prática de obter ganhos genéticos para uma única característica é a utilização da seleção direta entre e dentro de progênies, pois seleciona as melhores progênies e indivíduos dentro destas. No entanto, para se obter genótipos superiores, deve-se considerar um conjunto de características simultaneamente

(Ilker et al., 2013). Muitas vezes, essas são correlacionadas negativamente, o que pode gerar modificações em direções contrárias às desejadas pelos melhoristas. Assim, é necessário conhecer as correlações entre as variáveis analisadas para utilizar essa abordagem estatística.

Utilizar estratégias de seleção que contemplem ganhos favoráveis em um conjunto de características é importante para a seleção de genótipos superiores, principalmente quando se trata de características com herança quantitativa. Uma dessas estratégias é o índice de seleção, esse permite que todas as características de interesse sejam combinadas em um único valor, possibilitando a classificação correta dos genótipos promissores. Apesar da eficiência dos índices de seleção em identificar genótipos superiores, não há relatos na literatura de trabalhos que utilizem essa abordagem no melhoramento de goiabeiras.

É notório que algumas peculiaridades podem dificultar o melhoramento da cultura de goiaba, entre elas o fato de ser uma espécie perene, exigindo extensa área experimental, ciclo reprodutivo longo, acentuada oscilação anual de produção, sobreposição de geração, expressão dos caracteres ao longo de vários anos e perda de algumas plantas (Viana e Resende, 2014). Dadas as dificuldades, fica evidenciada a importância da busca por estratégias precisas de seleção de genótipos.

De acordo com Natale et al. (2009), a produção de frutos na goiabeira inicia-se bastante irregular, seguido por aumento gradativo na produção ao longo das safras até que a produção seja constante. Com isso, avaliar vários anos agrícolas consecutivos torna-se fundamental para o melhoramento da goiabeira, sendo possível identificar os mesmos indivíduos superiores ao longo das colheitas, pois espera-se que a resposta dos genótipos não se altere com os anos. Logo, a avaliação de multisafras é necessária em espécies perenes para que os genótipos promissores sejam selecionados com maior precisão.

Assim, quantificar a repetibilidade das variáveis é de grande importância para o melhoramento de espécies perenes, uma vez que permite estimar qual a quantidade mínima de avaliações no mesmo indivíduo é necessária para que a expressão de determinada característica seja constante. Dessa forma, quanto maior o valor da repetibilidade, melhor é a predição dos valores genéticos, possibilitando resultados acurados com menor dispêndio de tempo e mão de obra (Viana e Resende, 2014).

A abordagem que melhor se aplica ao estudo de espécies perenes é a que segue a metodologia dos modelos mistos, pois permite estimar os componentes de variância e prever os valores genéticos do indivíduo pela máxima verossimilhança restrita (REML) e de melhor predição linear não viesada (BLUP-*best linear unbiased prediction*), respectivamente (Resende e Duarte, 2007). Essas análises em conjunto geram resultados mais acurados, uma vez que maximizam os ganhos genéticos obtidos, em especial quando se trata de parcelas perdidas (Verardi et al., 2009).

Os modelos mistos também possibilitam avaliar a adaptabilidade e estabilidade da planta em diferentes locais, ou anos agrícolas. O REML/BLUP segue o seguinte princípio: quanto menor for o desvio-padrão do comportamento genotípico entre dois locais, maior será a média harmônica de seus valores genotípicos entre dois locais (Rosado et al., 2012).

Diante do exposto, o trabalho teve por objetivo comparar a melhor abordagem para a seleção de goiabeiras promissoras. A tese foi dividida em três capítulos. O primeiro trabalho objetivou comparar os ganhos genéticos preditos pelo índice clássico e pela seleção direta e indireta entre e dentro de famílias de irmãos completos; o segundo capítulo utilizou a abordagem dos modelos mistos a fim de estimar a repetibilidade das variáveis referentes à produção, o que possibilitou prever quantas safras serão necessárias para selecionar as melhores famílias e os melhores indivíduos com precisão; e o último capítulo refere-se ao monitoramento via marcadores microssatélites dos cruzamentos obtidos pelos indivíduos que mais se destacaram em termos de produtividade.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Selecionar genótipos promissores entre e dentro das melhores progênies, tendo em vista o incremento da produtividade com base em diferentes critérios de seleção. Além disso, estimar o número mínimo de colheitas que devem ser realizadas para a seleção, via modelos mistos, dos genótipos de maior confiabilidade.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Estimar os parâmetros genéticos das famílias estudadas para identificação de suas propriedades genéticas pela ANOVA;
- Comparar os ganhos preditos pelo índice clássico e a seleção direta e indireta entre e dentro de progênies;
- Verificar, por modelos mistos, a repetibilidade das variáveis avaliadas em quatro safras;
- Avaliar, usando REML/BLUP, a adaptabilidade e a estabilidade das progênies promissoras;
- Analisar o ganho genético predito nas progênies e nos indivíduos via BLUP;
- Confirmar os cruzamentos realizados a partir dos genótipos mais produtivos via marcadores microssatélites.

### **3. CAPÍTULOS**

#### **3.1 GANHO GENÉTICO ESTIMADO POR DIFERENTES CRITÉRIOS DE SELEÇÃO EM PROGÊNIES DE GOIABEIRA**

##### **3.1.1 INTRODUÇÃO**

O Brasil é o maior produtor mundial de goiaba vermelha, tendo uma produção anual de aproximadamente 425 mil toneladas (IBGE, 2016). O cultivo de goiabeiras em pomares comerciais pode ser encontrado em quase toda a extensão territorial brasileira, sendo encontrada desde o Rio Grande do Sul, passando por São Paulo, Minas Gerais, Goiás até o Norte e Nordeste brasileiro (Natale et al., 2009). O Estado de Pernambuco é o maior produtor de goiaba, seguido por São Paulo, Bahia e Rio de Janeiro (IBGE, 2016), perfazendo juntos cerca de 80% da produção nacional.

Para selecionar genótipos promissores e lançar uma cultivar é preciso avaliar as características de interesse agrônomo que, em sua maioria, são de herança quantitativa, tendo grande influência ambiental. Muitos desses caracteres estão associados uns aos outros, assim, a seleção de uma variável pode influenciar positiva ou negativamente a outra (Cruz et al., 2012). Dessa forma, para que se realize a seleção é necessário definir o melhor critério.

Uma das alternativas para a obtenção de ganhos genéticos é a seleção direta e indireta sobre uma característica (Rocha et al., 2012). Todavia, quando as variáveis são correlacionadas, os critérios de seleção univariados podem não gerar ganhos genéticos satisfatórios para todas as características avaliadas. Isto ocorre porque muitas vezes o melhorista deseja que diversas características sejam incrementadas simultaneamente e reunidas em um mesmo genótipo, o que dificulta a seleção, pois pode ocorrer a influência da correlação entre os caracteres, cujo sentido e magnitude dependem da associação entre elas (Martins et al., 2003).

Em contrapartida, a utilização de índices de seleção permite selecionar genótipos que possuam um conjunto de características desejáveis e obter ganhos genéticos satisfatórios (Maêda et al., 2001). Nesse contexto merece destaque o índice clássico, também denominado como índice de Smith (1936) e Hazel (1943). Ele utiliza apenas um valor para a escolha dos genótipos dotados das características agronômicas desejáveis, esse valor é resultante da associação de diferentes variáveis selecionadas, nas quais se deseja realizar a seleção simultânea. Isto ocorre pelo fato do índice ser baseado na combinação linear dos valores fenotípicos dos caracteres avaliados, sendo estimados coeficientes de ponderação a fim de maximizar a correlação entre o índice de seleção e os valores genéticos dos genótipos analisados. Com esse índice é possível obter pequenos ganhos genéticos em características negativamente correlacionados que podem surgir de ligações genéticas ou pleiotropia (Santos et al., 2007).

Diversos trabalhos com fruteiras têm sido realizados a fim de selecionar genótipos promissores a partir da comparação de critérios de seleção em diferentes fruteiras, tais como maracujá-azedo (Gonçalves et al., 2007; Neves et al., 2011) e mamão (Vivas et al., 2012).

Estratégias distintas de seleção foram avaliadas em progênies de meio-irmãos de maracujazeiro, sendo a seleção direta e indireta o critério que obteve maiores ganhos para características relacionadas ao fruto (Oliveira et al., 2008). Resultado diferente foi encontrado por Krause et al. (2012), no qual o índice de seleção proporcionou ganhos positivos em produtividade em progênies de irmãos completos de maracujazeiro-amarelo. Mesmo com a eficiência dos da seleção direta e indireta e dos índices de seleção em identificar genótipos superiores, não há relatos na literatura de trabalhos que utilizem essa abordagem em goiabeiras.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivos estimar os parâmetros genéticos, verificar a correlação entre as características referentes ao fruto e comparar os ganhos genéticos preditos em diferentes índices de seleção entre e dentro de progênes de irmãos completos de goiabeira, a fim de selecionar as melhores plantas com base em características referentes ao fruto.

### 3.1.2 REVISÃO

#### 3.1.2.1 Família Myrtaceae

A família Myrtaceae possui 130 gêneros e entre 3.800 a 5.800 espécies (Wilson et al., 2001, Govaerts et al., 2012). Ela apresenta ampla diversidade de espécies arbustivas e arbóreas que são encontradas em todo o mundo, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais (Bünger et al., 2014, Purbajanti et al., 2016). Os centros de diversidade da família Myrtaceae estão localizados na América tropical e temperada, na Austrália e no sudeste da Ásia (Wilson et al., 2001; Sampaio et al., 2016).

Muitos dos gêneros desta família são conhecidos por alocarem espécies que apresentam importância econômica mundial por produzirem frutos carnosos como a goiaba (*Psidium guajava*), o araçá (*Psidium cattleianum*), a jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), o jambo (*Syzygium malaccense*) e a pitanga (*Eugenia uniflora*) e especiarias como o cravo (*Syzygium aromaticum*) e a pimenta da Jamaica (*Pimenta dioica*). Além disso, são importantes fontes de madeira ou fibra para vários fins industriais, incluindo celulose, papel e produção de energia (*Eucalyptus grandis*) (Grattapaglia et al., 2012).

Myrtaceae possui grande representatividade no território brasileiro, com 24 gêneros e 974 espécies (Sobral et al., 2014). A grande maioria das espécies brasileiras possui as seguintes características: plantas arbustivas ou arbóreas; glabras ou pilosas, com indumento simples ou de tricomas dibráquiados, caducos ou persistentes; folhas simples ou opostas, raramente alternadas ou verticiladas, sem estípulas, com glândulas translúcidas; as flores são hermafroditas, tetrâmeras, pentâmeras ou hexâmeras, comumente brancas ou amareladas, raramente rosas ou avermelhadas; odoríferas; diplo ou polistêmones; estames livres, com filetes

filiformes dobrados no botão, presos ao disco estaminífero ou no ápice do hipanto; ovário ínfero, bi a multilocular; estigma simples; fruto bacoide (Landrum e Kawasaki, 1997, Wilson et al., 2001).

O número de cromossomos de espécies da família Myrtaceae foi caracterizado por Costa e Forni-Martins (2007) que verificaram o número básico da maioria das espécies sendo  $x=11$ . No entanto, o número somático pode variar de  $2n=2x=22$ ,  $2n=4x=44$ . Nas espécies do gênero *Psidium*, o número de cromossomos varia de 22 a 98 (Eder-Silva et al., 2009), sendo *Psidium guajava*  $2n = 22$  (Costa e Forni-Martins, 2006).

### 3.1.2.2 A goiabeira –*Psidium guajava*

O gênero *Psidium* possui 183 espécies, (Sobral et al., 2013), e grande parte das espécies catalogadas são encontradas do sul do México à Amazônia (Gonzaga Neto, 2007), com destaque para *P. guajava* L. (goiabeira), *P. cattleyanum* Sabine (araçá-doce) e *P. guineense* Swartz ou *P. araça* Raddali (araçá-verdadeiro) (Pereira e Nachtigal, 2003). Apesar do grande número de espécies no gênero, a goiabeira (*Psidium guajava*) é a única que possui importância econômica, as outras fazem parte do banco de germoplasma nativo (Santos et al., 2011).

A goiabeira é uma árvore de pequeno porte que atinge de 3 a 5 metros de altura por 5 a 6 metros de diâmetro de copa. Os seus troncos são tortuosos, com folhas de coloração verde-amarelada, ligeiramente lustrosas, opostas, de formato elíptico-oblongo, coreáceas e semicaducifólias (Pommer et al., 2009).

As flores da goiabeira são constituídas por cinco sépalas, são brancas na face superior e verdes na inferior e possuem cinco pétalas brancas. Elas são hermafroditas, com androceu formado por numerosos estames livres e com filetes brancos (Pereira et al., 2003).

A polinização cruzada é a forma mais comum de fecundação observada na goiabeira, fazendo jus à sua classificação como alógama, no entanto pode-se verificar uma expressiva taxa de autofecundação (Alves et al., 2007). De acordo com Alves et al. (2007), apenas 15% das autofecundações produziram frutos, em contrapartida 67% dos frutos provenientes de polinização cruzada foram colhidos. A goiabeira é visitada principalmente por espécies de abelhas, em especial abelha melífera (Alves et al., 2008). Esses agentes de polinização promovem a

maximização da produtividade em relação à autofecundação (Alves et al., 2007). Para manter a homogeneidade, a maioria dos pomares é propagada de forma vegetativa, porém alguns dos pomares são provenientes de propagação seminal (Nimisha et al., 2013; Coser et al., 2014), nesses pomares a variabilidade genética é melhor expressada, o que torna possível a seleção de indivíduos superiores.

O fruto da goiabeira é uma baga que se apresenta de forma variável, podendo ser arredondada, ovoide, ovalada-globosa, periforme ou globulosa com as dimensões de 4 a 12 cm de comprimento e de 5 a 7 cm de largura. O peso dos frutos também é bastante variável, sendo encontrados frutos de 42 gramas a 280 gramas. A casca do fruto pode ser grossa ou fina, com superfície lisa. Internamente o fruto apresenta um mesocarpo de espessura variável com uma massa consistente onde se localizam as sementes. A coloração da polpa varia entre amarela, branca e vermelha com aroma suave e agradável (Pommer et al., 2009)

Bastante apreciada pelo seu aroma e sabor característico, a goiaba possui alto valor nutritivo, contendo compostos fenólicos, ascorbato,  $\beta$ -caroteno, licopeno e constitui-se como fonte potencial de antioxidantes naturais para a dieta humana (Oliveira et al., 2012).

### **3.1.2.3 Importância econômica**

A fruticultura no Brasil possui grande representatividade no cenário econômico mundial, sendo o terceiro maior produtor mundial de frutas, atrás apenas da China e da Índia (FAO, 2016). Nesse mercado a goiaba se destaca e está entre as 19 principais frutas produzidas no Brasil, apresentando importância econômica, social e alimentar (IBGE, 2016).

O Brasil ocupa a posição de maior produtor de goiabas vermelhas, seguido pelo México, Paquistão e Índia (Menezes et al., 2011, Hernanes et al., 2013). Em 2014 e 2015, a produção nacional de goiaba atingiu 360 e 425 mil toneladas que geraram R\$ 358 e R\$ 476 milhões de reais respectivamente, para o Brasil (IBGE, 2016). No mercado internacional, as exportações de goiaba *in natura* nos anos de 2015 e 2016 apresentaram números de 96 a 103 toneladas, que geraram US\$ 253.850,00 e US\$ 218.500,00, respectivamente, para o Brasil (Agrostat/MAPA, 2016). As cultivares Paluma, Rica, Pedro Sato, Kumagai, Sassaoka, Ogawa,

Yamamoto, Século XXI e Cortibel são as mais cultivadas no país (Natale et al., 2009).

Todo esse destaque se deve ao fato de o Brasil possuir condições edafoclimáticas ideais para o cultivo de goiabeiras, sendo encontrados pomares comerciais desde o Rio Grande do Sul, passando por São Paulo, Minas Gerais, Goiás até o Norte e Nordeste brasileiro (Natale et al., 2009). Os Estados de Pernambuco, São Paulo e Minas Gerais são os mais produtivos estando o Estado do Rio de Janeiro em sexto lugar (IBGE, 2016).

Grande parte da produção de goiaba é consumida pelo mercado brasileiro. No cenário agrícola mundial ainda é pouco comercializada devido à falta de uniformidade quanto à forma, coloração, tamanho dos frutos e alto grau de perecibilidade na fase de pós-colheita. Somados, esses fatores constituem grande obstáculo para a inserção e ampliação do mercado externo da goiaba (Teixeira et al., 2010; Abreu et al., 2012).

Apesar de possuir grande representatividade no cenário agrícola brasileiro, tem-se observado queda na produtividade da goiaba. Essa diminuição é devido à doença causada pelo nematoide das galhas (*Meloidogyne mayaguensis*) e pelo fungo *Fusarium solani*, que têm causado o declínio da goiabeira (*Psidium guajava*). Esses agentes etiológicos devastaram diversas plantações no interior do Rio de Janeiro, gerando queda da produtividade no Estado e, conseqüentemente, grande número de desempregados (Gomes et al., 2010).

Para combater esse processo fitopatológico e suprir essa deficiência é necessário que se desenvolva programas de melhoramento genético a fim de selecionar genótipos resistentes às doenças, mas também produtivos que satisfaçam tanto o mercado de frutas *in natura* quanto a indústria de processamento.

#### **3.1.2.4 Melhoramento da goiabeira**

Acredita-se que a introdução da goiabeira em várias partes do mundo foi realizada pelos navegadores, e esses ao selecionarem as plantas que produziam frutos mais atrativos, mesmo sem conhecimentos genéticos, iniciaram o melhoramento desta fruteira (Pereira e Nachtigal, 2003).

Produtores de origem japonesa realizaram por muito tempo a seleção da mesma forma que os primeiros navegadores que chegaram ao Brasil, selecionando

plantas que apresentavam características adequadas à comercialização, sendo essas fixadas por meio de propagação vegetativa. Assim, as principais variedades produtivas, tais como Kumagai, Ogawa, Pedro Sato e Sassaoka, destinadas em especial para o consumo *in natura*, foram desenvolvidas dessa forma.

Apenas em 1962 foi realizado o primeiro trabalho de pesquisa no Brasil, desenvolvido por Soubine e Gurgel (1962). Esse trabalho foi o ponto de partida para que muitos outros pesquisadores despertassem o interesse por essa fruteira e continuassem o melhoramento da goiabeira.

Instituições de pesquisas têm realizado vários trabalhos a fim de lançar cultivares promissoras no mercado. A cultivar Paluma e Século XXI são resultados desses esforços, sendo essas desenvolvidas pela Unesp (Pereira et al., 2003). A empresa Frucapé em parceria com a Universidade Federal do Espírito Santo desenvolveu algumas cultivares de goiaba que foram denominadas de Cortibel. Essas foram originadas pela seleção em pomar de polinização aberta de origem seminal de genótipos produtivos (Coser et al., 2014).

Pereira e Nachtigal (2002) consideram que a goiaba deve ter massa do fruto maior que 100 g, polpa vermelha, rendimento de polpa superior a 70%, sólidos solúveis acima de 10°Brix, conteúdo de vitamina C de 100 mg de ácido ascórbico por 100 g de polpa e uma produção mínima de 30 t/ha. A goiabeira deve apresentar hábito de crescimento lateral e tolerância a pragas e doenças.

O melhoramento da goiabeira pode seguir várias vertentes dependendo da destinação do fruto. Existem três sistemas de produção bem distintos para a cultura da goiabeira, a goiaba de mesa, a indústria e a cultura mista, que têm como objetivo abranger os dois mercados, simultaneamente. Os produtores de goiaba têm optado pelo sistema da cultura mista, pois permite que os frutos de melhor qualidade sejam destinados ao mercado de fruta *in natura* e as demais direcionadas para processamento e produção de sucos, geleias e doces, com maior valor agregado (Pereira e Nachtigal, 2002).

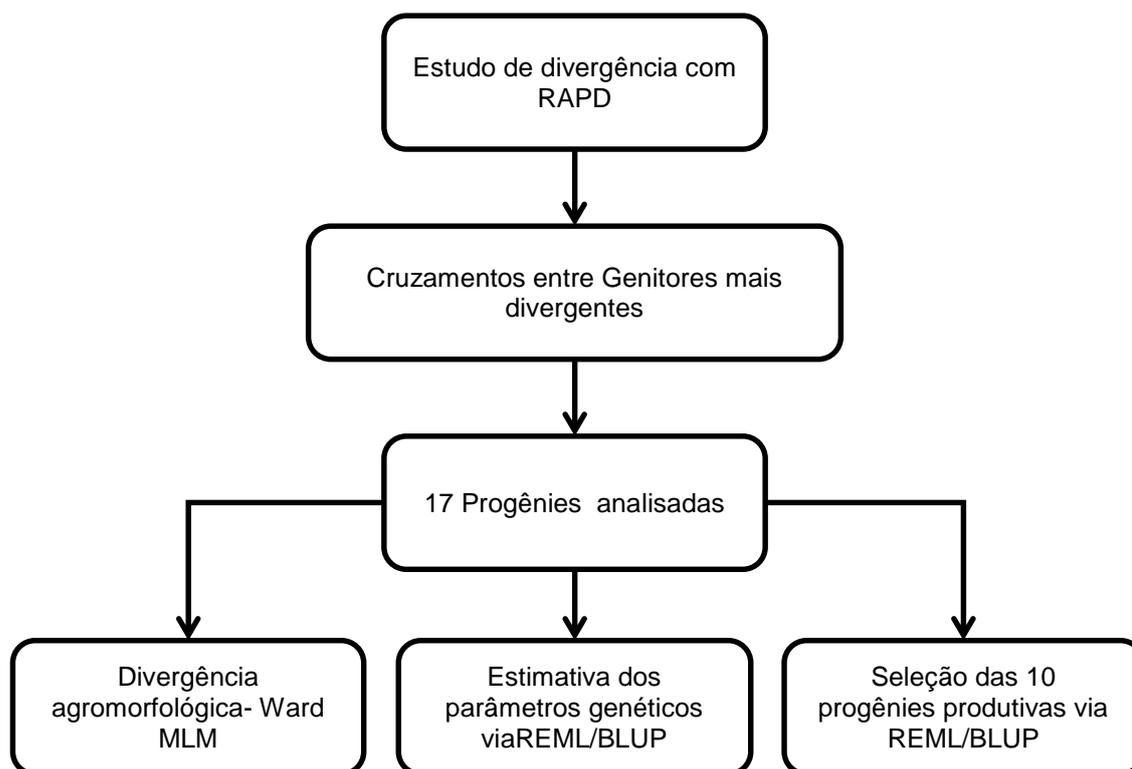
Para ampliarem seus negócios, os produtores devem concentrar esforços para atender as demandas da indústria e do mercado de frutas *in natura*. Sabe-se que os frutos destinados à indústria de sucos e polpas devem ser de coloração rosa a vermelho, altos teores de pectina e altos teores de sólidos solúveis. Já para o consumo da fruta fresca, são preferíveis frutos maiores com coloração vermelha, polpa espessa, maiores valores de teor de sólidos solúveis e poucas sementes. Em

relação à planta, o melhoramento deve identificar genótipos mais produtivos, adaptados a diferentes condições ambientais e resistência a pragas, doenças e problemas fisiológicos.

No entanto, além do melhoramento da goiabeira visar plantas mais produtivas e frutos com características que atendam a todos os mercados, é necessário selecionar plantas resistentes a doenças que atingem goiabeiras a fim de evitar que plantações sejam dizimadas. Miranda et al., (2012) testaram diferentes acessos de *Psidium* spp. no que se refere a resistência ao nematoide *Meloidogyne enterolobii*, e verificaram que todos os acessos de araçás (*P. cattleyanum*) foram resistentes. Esse resultado indica a possível utilização do uso dessa espécie como porta-enxerto em goiabeira para controlar *M. enterolobii* em plantios comerciais de goiaba.

### **3.1.2.5 Melhoramento da goiabeira na UENF**

A necessidade de desenvolver cultivares de goiabeira com características agronômicas superiores tanto para o consumo *in natura* quanto para o processamento na região do Norte Fluminense levou a Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF) a iniciar um programa de melhoramento para esta fruteira. Este programa iniciou em 2008 com a coleta de 15 acessos de *Psidium guajava* (goiabeira) em pomar de polinização aberta, para análise da divergência genética entre eles (Pessanha et al., 2011). A análise permitiu indicar genitores geneticamente distantes (Figura 1), os quais são ideais para cruzamentos uma vez que alcançam maior efeito da heterose nas progênies.



**Figura 1.** Fluxograma do programa de melhoramento da goiabeira desenvolvido pela UENF.

De acordo com esta análise foi definido os genitores para os cruzamentos, sendo geradas 17 progênies. Esses cruzamentos foram confirmados por meio de marcadores microssatélites que ratificaram a ampla variabilidade genética (Pessanha, 2011). As sementes dos frutos desses cruzamentos, oriundos de genitores com considerável grau de heterozigose, originaram uma população de ampla variabilidade genética pelo fato de a população estar se comportando como população segregante. As progênies foram caracterizadas e avaliadas com caracteres morfológicos quantitativos e qualitativos, analisadas em conjunto pelo método de Ward-MLM. Cinco grupos foram formados, diferenciando os indivíduos de forma clara e precisa. Os acessos com frutos maiores e maior rendimento de polpa foram alocados no mesmo grupo por possuírem características que conferem maior preferência para o consumo da fruta *in natura*. Em contrapartida, indivíduos com maior número de frutos por planta e de coloração vermelha foram reunidos em um mesmo grupo, por serem ideais para a indústria de processamento. Outro grupo reuniu acessos com frutos que possuíam maiores valores de teor de sólidos solúveis e vitamina C (Campos et al., 2013). Assim, foi verificada ampla divergência genética entre os indivíduos, sendo possível realizar cruzamentos para gerar

famílias de irmãos completos a fim de unir características de interesse observadas em um grupo com outras características presentes em outro grupo.

A obtenção de genótipos superiores exige que se reúna uma série de atributos favoráveis na mesma planta, conferindo rendimento que satisfaça os interesses dos produtores e as exigências do mercado. Assim, Quintal (2013) selecionou, pelo índice de seleção via modelos mistos, as 10 melhores progênes, ranqueando-as em relação ao maior número de frutos por planta, peso do fruto e produtividade, permitindo a seleção de genótipos para a obtenção de novas variedades comerciais com atributos superiores.

### **3.1.2.6 Seleção entre e dentro de progênes**

A seleção entre e dentro das progênes permite selecionar as melhores progênes e ao mesmo tempo os genótipos que se destacam nessas progênes. Nesse método de seleção podem ocorrer duas situações: após as progênes serem avaliadas elas são descartadas e as irmãs das progênes promissoras recombinadas; ou as mesmas progênes avaliadas serem submetidas à recombinação (Vencovsky 1987). Pelo fato de a goiabeira ser uma espécie perene, segue-se a segunda situação e as mesmas progênes avaliadas são recombinadas no ano agrícola seguinte.

A escolha da seleção por famílias é aconselhada quando a maioria das variáveis submetidas à seleção possui baixa magnitude nos coeficientes de herdabilidade. Com isso, ao realizar esse tipo de seleção acredita-se que serão obtidos ganhos genéticos maiores, pois há um incremento dos valores dos coeficientes de herdabilidade (Gonçalves et al., 2007).

Diversas são as estratégias para obtenção da população melhorada. A seleção direta é a alternativa que o melhorista visa como incremento em apenas uma característica. Outra estratégia é a seleção indireta sobre uma característica, em que a seleção é realizada em um carácter a fim de obter ganhos em outras características, no entanto, podem ocorrer respostas favoráveis ou desfavoráveis nos caracteres de importância secundária (Rocha et al., 2012).

É importante salientar que quando a seleção é realizada em uma característica específica, geralmente gera modificações em outras, devido às correlações genéticas, essa alteração é conhecida pelos melhoristas como

“resposta correlacionada à seleção” (Teodoro et al., 2014). Por isso, é necessário que se conheçam as relações entre os caracteres avaliados, para que se saiba se as variáveis são correlacionadas positivamente, negativamente ou não possuem correlação.

Todavia, quando os caracteres estão relacionados, os critérios de seleção univariados podem não gerar ganhos genéticos satisfatórios e, podem selecionar genótipos não tão produtivos. Isto ocorre quando diversas características são avaliadas simultaneamente e reunidas em um mesmo genótipo, o que dificulta a seleção devido à influência da correlação entre os caracteres, cujo sentido e magnitude dependem da associação entre elas (Martins et al., 2003).

Dessa forma, para selecionar genótipos que possuam um conjunto de características favoráveis e obter ganhos genéticos satisfatórios na maioria delas, têm-se utilizado análises multivariadas. Dentre as técnicas atualmente disponíveis, os índices de seleção têm se destacado (Maêda et al., 2001), sendo o índice clássico, ou índice de Smith (1936) e Hazel (1943), um dos mais utilizados. Este índice utiliza apenas um valor para a escolha dos genótipos com as características agronômicas desejáveis, sendo esse valor resultante da associação de diferentes variáveis selecionadas, nas quais se deseja realizar a seleção simultânea. Isto ocorre pelo fato desses genótipos estarem baseados em uma combinação linear dos valores fenotípicos dos caracteres avaliados, sendo estimados coeficientes de ponderação a fim de maximizar a correlação entre o índice de seleção e os valores genéticos dos genótipos analisados. Com esse índice é possível obter pequenos ganhos genéticos com características negativamente correlacionados, que podem surgir de ligações genéticas ou pleiotropia (Santos et al., 2007).

Diversos trabalhos com fruteiras têm sido realizados a fim de selecionar genótipos promissores a partir da comparação de análises univariadas e multivariadas de fruteiras como maracujá-azedo (Gonçalves et al., 2007; Neves et al., 2011) e mamão (Vivas et al., 2012). Vivas et al. (2013) estimaram ganhos genéticos em progênies de meio-irmãos de mamoeiro com o objetivo de selecionar progênies com maior concentração de alelos de resistência à pinta-preta. Para isso os autores testaram diversos índices de seleção, sendo possível observar redução nas médias para os sintomas da pinta-preta nas plantas selecionadas, quando comparadas com a média da população original.

Estratégias distintas de seleção foram avaliadas em progênies de meio-irmãos de maracujazeiro, sendo verificada ampla variabilidade genética, o que permitiu, via seleção direta e indireta, a predição de ganhos genéticos favoráveis para características relacionadas ao fruto (Oliveira et al., 2008). O índice de seleção também tem proporcionado ganhos positivos em progênies de irmãos completos de maracujazeiro-azedo via índice de seleção, sendo avaliada a produtividade, a percentagem e o peso de polpa, o comprimento, o diâmetro e o peso de frutos e espessura de casca (Krause et al., 2012).

### **3.1.3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1.3.1 Material Vegetal**

As progênies avaliadas foram provenientes de cruzamentos controlados biparentais obtidos entre setembro e outubro de 2008. A escolha dos genitores utilizados para cruzamento foi realizada com base no estudo de diversidade genética via marcadores moleculares (Pessanha et al., 2011). As sementes oriundas desses cruzamentos, por terem sido originadas de genitores com considerável grau de heterozigose, geraram uma população  $S_0$  com ampla variabilidade genética. Dessa forma, a população  $S_0$  se comportou como  $F_2$ , ou seja, uma população segregante. A variabilidade (Campos et al., 2013) e a estimação de parâmetros genéticos via REML (Quintal, 2013) desta população foi analisada em estudos anteriores.

O experimento foi realizado no Colégio Agrícola Antônio Sarlo, no município de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro. Foram avaliadas 10 progênies de goiabeira de irmãos completos, dispostos em delineamento de blocos ao acaso com duas repetições, sendo 12 plantas por parcela. No período de frutificação dos genótipos, todos os frutos com tamanho de aproximadamente 10 cm foram envolvidos em sacos de polietileno cujas bordas foram cortadas para permitir a respiração do fruto. Esse procedimento foi realizado a fim de evitar os danos causados pelo ataque da larva da mosca-da-fruta (Teixeira et al., 2011). Os frutos foram colhidos ao atingirem o primeiro estágio de maturação, caracterizado pela coloração verde-escura da casca (Azzolini et al., 2004) e, posteriormente, avaliados

considerando a relação de descritores para a espécie *P. guajava* L., de acordo com a UPOV (1987) (*International Union for the Protection of New Varieties of Plants*).

A produção total de frutos (PT) foi obtida pela multiplicação do número total de frutos e a massa média dos frutos. O número de frutos total por planta foi contabilizado desde o início da frutificação até o término da safra. As demais características foram avaliadas com uma amostra de 15 frutos por planta, a saber: massa do fruto (MF) em gramas, colhidos em cada genótipo, utilizando-se uma balança semi-analítica; massa da polpa; rendimento da polpa (RP), calculado através da relação da massa do fruto e da massa da polpa; diâmetro do fruto (DM, em cm), obtido pela medição transversal do fruto; comprimento do fruto (CM, em cm), obtido pela mensuração longitudinal do fruto; espessura do mesocarpo (EM, em cm), medição na região que compreende da casca do fruto até o início da polpa, espessura da casca (EC) e teor de sólidos solúveis (TSS, em °Brix).

### 3.1.3.2 Análise estatística

A análise de variância foi realizada conforme o modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + p_i + b_j + e_{ij} + d_{ijk},$$

em que:

$Y_{ijk}$  é a observação do genótipo k, da progênie i na repetição j;

$\mu$  é a constante geral;

$p_i$  é o efeito da progênie i;

$b_j$  é o efeito da repetição j;

$e_{ij}$  é o erro experimental associado à progênie i, na repetição j;

$d_{ijk}$  é o efeito do indivíduo k da progênie i, na repetição j.

Todas as análises foram realizadas com o auxílio do programa Genes (Cruz, 2013). Em seguida foram estimados parâmetros genéticos: coeficiente de variação experimental ( $CV_e$ ); coeficiente de variação genética ( $CV_g$ ); índice de variação ( $CV_g/CV_e$ ); variância dentro da progênie ( $\sigma_w^2$ ); variância residual ( $\sigma^2$ ), variância genotípica ( $\sigma_g^2$ ), e herdabilidade da média das progênies ( $h_m^2$ ) e herdabilidade de indivíduos dentro de famílias. O cálculo dos parâmetros foi realizado da seguinte maneira:

a) Variância dentro da parcela:

$$\hat{\sigma}_w^2 = QMP$$

b) Variância residual:

$$\hat{\sigma}_e^2 = \frac{QME}{p}$$

c) Variância genética:

$$\hat{\sigma}_g^2 = \frac{QMG - QME}{p \cdot r}$$

d) Variância fenotípica

$$\sigma_p^2 = \frac{QMG}{p \cdot r}$$

e) Herdabilidade com base na média da família:

$$\hat{h}_m^2 = \frac{QMG - QME}{QMG}$$

f) Herdabilidade de indivíduos dentro de famílias:

$$\hat{h}_p^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \sigma_e^2 + \sigma_w^2}$$

g) Coeficiente de variação experimental:

$$CV_e = \frac{100 \cdot \sqrt{\sigma_e^2}}{\bar{x}}$$

h) Coeficiente de variação genética

$$CV_g = \frac{100 \cdot \sqrt{\sigma_g^2}}{\bar{x}}$$

i) Índice de variação

$$IV = \frac{CV_g}{CV_e}$$

A correlação genética entre as características foi realizada a fim de verificar o grau de associação genética existente entre duas características quantitativas. Em seguida foi empregada a seleção utilizando dois critérios de seleção: a seleção direta e indireta sobre cada característica analisada e a seleção com base no Índice Clássico (Smith, 1936 e Hazel, 1943).

Na predição dos ganhos genéticos, foram selecionadas as cinco melhores progênes e as quatro melhores plantas dentro da progênie, totalizando 40 plantas

selecionadas, e aproximadamente 16,6% do total avaliado. A seleção foi simulada em relação a todas as características visando o acréscimo de suas médias originais.

### 3.1.3.3 Seleção direta e indireta

O ganho por seleção direta, entre e dentro das progênies, foi estimado pelas equações abaixo:

$$GS_e = h_m^2 \cdot DS_e \quad GS_e \% = 100 \cdot \frac{GS_e}{\bar{x}_o}$$

$$GS_d = h_d^2 \cdot DS_d \quad e \quad GS_d \% = 100 \cdot \frac{GS_d}{\bar{x}_o}$$

$$GS_t = h_m^2 \cdot DS_t \quad e \quad GS_t \% = 100 \cdot \frac{GS_t}{\bar{x}_o}$$

Em que:  $GS_e$ ,  $GS_d$  e  $GS_t$  são, respectivamente, os ganhos entre famílias, dentro de famílias e totais;  $h_m^2$  e  $h_d^2$  são os coeficientes de herdabilidade em nível de médias de famílias e em nível de plantas dentro de famílias, respectivamente;  $DS_e$  e  $DS_d$  são, respectivamente, os diferenciais de seleção com base nas médias de famílias e dentro da família.

### 3.1.3.4 Índice Clássico

O índice clássico utilizou a seguinte equação, utilizando como pesos econômicos, o coeficiente de variação genotípica e tentativas.

$$I = b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_nx_n = \sum_{i=1}^n b_i x_i$$

$$H = a_1g_1 + a_2g_2 + a_n g_n + \dots + a_n g_n = \sum_{i=1}^n a_i g_i = a'g$$

Em que:

$n$  é o número de caracteres avaliados;  $b'$  é o vetor de dimensão  $1 \times n$  dos coeficientes de ponderação do índice de seleção a ser estimado;  $x$  é a matriz de dimensão  $n \times p$  (plantas) de valores fenotípicos dos caracteres;  $a'$  é o vetor de dimensão  $1 \times n$  de pesos econômicos previamente estabelecidos;  $g$  é a matriz de dimensão  $n \times p$  de valores genéticos desconhecidos dos  $n$  caracteres considerados.

A predição do ganho genético para as características foi obtida pela expressão:

$$GS_{I(I)} = \hat{G}_1 \hat{b}_1 \frac{DS_{I(I1)}}{\hat{\sigma}_{I1}^2} + \hat{G}_2 \hat{b}_2 \frac{DS_{I(I2)}}{\hat{\sigma}_{I2}^2}$$

Onde:  $GS_{I(I)}$  = resposta esperada na característica  $I$ , quando a seleção foi praticada entre e dentro no índice;  $DS_{I(I1)}$  e  $DS_{I(I2)}$  = diferenciais de seleção observados nos índices  $I_1$  e  $I_2$ , resultantes da seleção entre e dentro de progênes,  $\sigma^2_{I1}$  e  $\sigma^2_{I2}$  = estimadores das variâncias dos índices  $I_1$  e  $I_2$ , respectivamente.

Os pesos econômicos utilizados no índice clássico foram oriundos dos dados experimentais: pesos econômicos relativos ao coeficiente de variação genética ( $ISH_1$ ) de cada característica avaliada; pesos econômicos obtidos por tentativas ( $ISH_2$ ), com valores: 1;5000;1;5000;1 para produção total, espessura do mesocarpo, espessura da casca, rendimento da polpa e diâmetro do fruto/comprimento do fruto, respectivamente. Após diversas tentativas esses valores foram escolhidos por gerar ganhos preditos desejáveis para todas as características em estudo.

### 3.1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características avaliadas são fundamentais para a aceitação do fruto no mercado consumidor. Esse exige um fruto com bom rendimento da polpa, sabor, dimensão e forma agradáveis. A predição do formato do fruto é realizada pela relação entre o comprimento e o diâmetro do fruto, sendo esta relação um estimador da qualidade industrial, isto é, quanto mais próximo de 1, mais redondo é o fruto. Assim, as mensurações do comprimento e do diâmetro do fruto, isoladamente, possuem pouca importância para a caracterização dos frutos de

goiabeira (Campos et al., 2013). Dessa forma, foi possível observar que os frutos avaliados estão dentro dos padrões exigidos, sendo a média da relação comprimento e diâmetro do fruto 1,17.

Quanto à análise de variância, houve diferença significativa entre os genótipos (Tabela 1), com exceção do teor de sólidos solúveis. Essa diferença indica que há variabilidade entre os genótipos e permite a obtenção de ganhos genéticos nas progênes analisadas. O fato de o teor de sólidos solúveis não apresentar diferença significativa entre os genótipos não representa um problema nesta população uma vez que os dados observados para a variável se encontram dentro da faixa de valores que satisfazem tanto o mercado de frutas frescas quanto a indústria de sucos e doces (8 a 12°Brix) (Lima et al., 2002; Pereira et al., 2003), com média de 8,7°Brix. Os coeficientes de variação experimental ( $CV_e$ ) variaram de 0,98 (rendimento da polpa) a 14,46 (produção total). Ramos et al. (2010) ao avaliar caracteres agrônômicos de goiabeira também encontraram maiores valores de coeficiente de variação experimental para produção (25,98%). De acordo com Resende (2007), é comum observar maiores valores do coeficiente de variação para características de contagem, tais como o número de frutos por planta. Isto ocorre para produção, visto que, a variável é o produto do peso médio dos frutos por planta e o número de frutos por planta, que é uma característica de contagem. Os valores de  $CV_e$  obtidos para características fenotípicas contínuas foram inferiores a 10%, podendo ser considerados valores satisfatórios para experimentos com espécies perenes (Martins et al., 2003), além de indicar boa precisão experimental.

O índice de variação (IV) verifica o quanto da variância ambiental predominou sobre a variância genética, isto é, quanto mais próximo ou superior à unidade, menos influenciado pelo ambiente é a característica (Cavalcante et al., 2012). De acordo com Vencovsky (1987), quando o índice de variação, que é a relação entre  $CV_g$  e  $CV_e$ , tende a 1 ou é superior, indica que a população pode vir a obter ganhos na seleção. Assim, os genótipos estudados podem ser submetidos à seleção, visto que as variáveis avaliadas apresentaram valores superiores a 1, variando de 1,05 a 3,33.

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância e estimativas de parâmetros genéticos referentes às características de fruto.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio					
		PT	EM	EC	RP	CM/DM	TSS
Bloco	1	3099678285,38	23,15	0,030	0,041	0,075	1,08
Progênie	9	455131729,88**	4,17*	2,507**	0,0091*	0,024**	2,26
Erro	9	84702378,61	1,29	0,123	0,00215	0,0023	6,61
Planta/progênie	220	68042203,89	1,64	0,182	0,00371	0,0034	0,82
Média		18365,007	11,84	2,04	1,36	1,17	8,70
CV <sub>e</sub> %		14,46	2,76	4,96	0,984	1,19	8,53
$\sigma^2_g$		15434556,30	0,12	0,099	0,000286	0,000904	-
$\sigma^2_f$		68042203,89	1,648	0,19	0,003716	0,003431	-
$\sigma^2_e$		1388347,89	0,0298	0,004	0,000131	0,000092	-
$h^2_m$		0,8139	0,6909	0,9508	0,7616	0,91	-
$h^2_d$		0,2268	0,073	0,5451	0,077	0,27	-
CV <sub>g</sub>		21,39	2,93	15,43	1,24	2,57	-
IV		3,33	1,05	3,11	1,26	2,15	-

PT: produção total (número de fruto por planta\*peso do fruto); EM: espessura do mesocarpo (mm); EC: espessura da casca (mm); RP: rendimento da polpa, relação da massa do fruto e da massa da polpa; CM/DM: relação comprimento e diâmetro do fruto; TSS teor de sólidos solúveis.  $\sigma_g$ : variância genotípica;  $\sigma_f$ : variância fenotípica;  $\sigma_e$ : variância residual;  $h^2_m$  e  $h^2_d$ : estimativas dos coeficientes de herdabilidade em nível de média de famílias e de indivíduos dentro de famílias, respectivamente; CV<sub>exp</sub> e CV<sub>ge</sub>: estimativas dos coeficientes de variação experimental e coeficiente de variação genética entre famílias, respectivamente. \*Significativo a 5% de probabilidade \*\*Significativo a 1% de probabilidade pelo teste T.

Os coeficientes de herdabilidade variaram de 0,69 a 0,95 em relação à média das progênies, sendo a espessura do mesocarpo (0,95) e a relação comprimento e diâmetro do fruto (0,90) as características que apresentaram os maiores valores das estimativas de herdabilidade em relação às médias das progênies.

Em relação à produção de frutos por planta, variável de grande interesse econômico, foi encontrado um alto coeficiente de herdabilidade (0,81), o que indica ser possível realizar a seleção para essa variável e obter ganhos satisfatórios.

Ao analisar os coeficientes de herdabilidade dentro de família verificou-se que esses foram bem menores do que a herdabilidade com base nas médias de famílias. Outros trabalhos encontraram resultados semelhantes em *Eucalyptus urophylla* (Rosado et al., 2009) e *E. camaldulensis* (Paula et al., 2002), o que corrobora com este trabalho, visto que ambos são espécies perenes. Este resultado permite inferir que a seleção com base nas médias das famílias pode ser mais eficiente do que dentro de famílias. No entanto, a seleção entre e dentro de famílias

deve ser realizada a fim de utilizar toda a variabilidade existente na população, maximizando, assim, os ganhos genéticos.

Segundo os critérios propostos por Cruz e Carneiro (2012), a análise de multicolinearidade mostrou que as variáveis não estão correlacionadas nem mesmo dentro do intervalo que se considera multicolinearidade fraca. Cabral et al. (2011) salientam a importância desse teste quando se tem por finalidade realizar análises de regressões, de trilha e de índice de seleção. As estimativas dos parâmetros sob multicolinearidade podem admitir valores absurdos ou sem nenhuma coerência com os fenômenos biológicos estudados (Cruz e Carneiro, 2012).

Ao se analisar os coeficientes de correlação genotípica e fenotípica em médias de progênie, observaram-se valores de baixa magnitude como, por exemplo, rendimento da polpa x relação comprimento e diâmetro (Tabela 2). Esse resultado permite inferir que a seleção para essas variáveis pode ser realizada sem que haja uma resposta correlacionada. É importante ressaltar que para muitas características as estimativas de correlação genotípica foram superiores às correlações fenotípicas, o que indica que os fatores genéticos possuem maior relevância que os fatores ambientais (Oliveira et al., 2008).

**Tabela 2.** Estimativas de correlações fenotípicas (rf), genotípicas (rg) e ambientais (ra), em médias de famílias de irmão-completo, referentes às características de fruto estudadas em goiabeira.

Característica	Correlação	EM	EC	RP	CM/DM
PT	Rf	-0,3219	0,419	-0,1207	-0,1523
	RG	-0,4926	0,4584	-0,2213	-0,2531
	Ra	0,1966	0,1648	0,2267	0,4655
EM	Rf		-0,425	-0,425	-0,0906
	RG		-0,5499	-0,2874	-0,2045
	Ra		0,161	-0,808	0,3962
EC	Rf			0,2414	0,2414
	RG			0,2918	0,5664
	Ra			-0,0198	0,5453
RP	Rf				0,0188
	RG				0,0289
	Ra				-0,0286

PT: produção de frutos por planta; EM: espessura do mesocarpo; EC: espessura da casca; RP: rendimento da polpa; CM/DM: relação do comprimento e diâmetro do fruto.

As estimativas de correlação fenotípica, genotípica e ambiental entre PT e todas as características foram negativas (Tabela 2), com exceção da espessura da

casca. O que sugere que ao se praticar a seleção em PT, todas as outras poderão ser influenciadas negativamente, havendo um aumento na espessura da casca, contudo, gera-se um entrave visto que frutos com casca mais espessa não é o que o consumidor final procura.

A correlação negativa entre produção total de frutos e rendimento da polpa pode ser explicada, pois ao aumentar a produção de frutos, a tendência é ocorrer incremento no peso da casca, diminuindo a massa da polpa. O mesmo ocorreu com Oliveira et al. (2008), ao avaliarem famílias de meio-irmãos de maracujazeiro, sendo observado correlação negativa entre peso do fruto e rendimento da polpa. Assim, ao aumentar o número de frutos por planta poderão ser produzidos frutos menores e com menor rendimento da polpa. Esta informação permite inferir que a seleção para apenas produção de frutos poderá ocasionar variações indesejáveis nas outras variáveis.

Neste sentido, no contexto do melhoramento, o melhor método de seleção será aquele que predisser ganhos satisfatórios para todas as características, até mesmo aquelas que se correlacionarem negativamente. Os critérios de seleção, ao predizerem o ganho genético, possibilitam orientar de maneira efetiva programas de melhoramento e decidir qual esquema seletivo poderá ser adotado com sucesso (Cruz et al., 2012), sendo possível verificar quais as melhores progênies e os melhores indivíduos dentro dessa progênie.

Em todos os critérios de seleção analisados, ganhos genéticos preditos foram superiores para produção total de frutos e espessura da casca (Tabela 3). O mesmo ocorreu no trabalho de Oliveira et al. (2008), ao avaliarem caracteres agrônômicos em maracujá, verificaram maiores ganhos para número de fruto, e ganhos menores para rendimento da polpa. Em ambos, as características que obtiveram maiores ganhos genéticos preditos possuem os maiores coeficientes de variação genotípica e altos valores de estimativas dos coeficientes de herdabilidade, o que pode explicar os maiores ganhos genéticos.

As maiores expectativas de ganho, considerando a seleção direta, foram em relação à produção e à espessura da casca, com valores de 25,17 e 24,72, respectivamente. As demais características apresentaram ganhos de baixa magnitude, variando de 1,11 a 3,22 (Tabela 3). Tal ocorrência deve-se à baixa variabilidade genética encontrada dentro das progênies, podendo ser visualizada pela estimativa de herdabilidade individual dentro de progênies.

**Tabela 3.** Estimativas dos progressos genéticos com a seleção direta e indireta e índice clássico, entre e dentro de famílias de irmãos-completos de goiabeira.

Seleção	Resposta esperada (%)					Ganho total(%)
	PT	EM	EC	RP	CM/DM	
PT	25,17	-1,83	5,32	0,18	-0,55	28,29
EM	-5,61	2,98	-11,06	-0,53	-0,97	-15,19
EC	13,57	-2,47	24,72	0,76	2,37	38,95
RP	-3,06	-0,60	3,73	1,11	-1,02	-0,16
CM/DM	-6,51	-0,81	10,98	-0,11	3,22	6,77
ISH <sub>1</sub>	28,66	-2,32	12,82	-0,06	-0,57	38,53
ISH <sub>2</sub>	26,85	-1,19	6,62	-0,22	-1,54	30,52

ISH<sub>(1,2)</sub>: Índice Clássico (Smith e Hazel) ISH<sub>1</sub>: coeficiente de variação genética, ISH<sub>2</sub>: pesos econômicos por tentativas (1;5000;1;5000;1); PT: produção de frutos por planta; EM: espessura do mesocarpo; EC: espessura da casca RP: rendimento da polpa; CM/DM: relação do comprimento e diâmetro do fruto.

A seleção direta em produção total e o índice clássico proporcionaram respostas correlacionadas negativamente entre todas as características (Tabela 3), exceto com a espessura da casca, isto se deve à correlação genética existente entre as características. Martins et al. (2003), ao realizarem a seleção direta em eucalipto, obtiveram ganhos consideráveis para circunferência à altura do peito, em contrapartida, ao selecionar genótipos com maior circunferência à altura do peito e mais altos, foram selecionados genótipos suscetíveis à ferrugem e ao cancro.

As respostas correlacionadas geraram ganhos muito baixos ou negativos em algumas características. Um exemplo disso é observado ao se analisar a variável rendimento da polpa com 1,11 na seleção direta e ganhos negativos para as demais características (Tabela 3). Isso mostra que a seleção baseada em apenas uma variável foi inadequada, pois se considerar a produção total como variável principal tem-se o produto final superior apenas para essa variável, com respostas desfavoráveis nas demais características. Esses resultados indicam que devem ser utilizados métodos que permitam combinações de ganhos esperados favoráveis na avaliação dessas progênies.

Outra estratégia utilizada no presente estudo foi utilizar critérios multivariados, conhecidos como Índice de Seleção. Dentre os Índices de Seleção, foi utilizado o Índice Clássico, proposto por Smith e Hazel. Este apresentou maiores expectativas de ganhos genéticos para todas as características, com exceção da

espessura da casca. Nesse índice foram obtidos menores ganhos quando comparado com a seleção direta (Tabela 3). Martins et al. (2003), ao compararem a seleção direta e o índice de seleção para definição dos melhores genótipos de eucalipto em famílias de meio-irmãos também encontraram maiores estimativas de ganhos genéticos com o uso do índice de seleção, não obtendo ganhos favoráveis com os processos de seleção direta e indireta. Em contrapartida, Oliveira et al. (2008) observaram que a seleção direta e indireta foi o método que proporcionou maiores estimativas de ganho na cultura do maracujazeiro.

De acordo com Cruz e Carneiro, (2003), a estimativa de índices de seleção fidedignos depende do estabelecimento de matrizes de variância e covariância genéticas e fenotípicas bem estimadas e de pesos econômicos bem estabelecidos. Cruz et al. (2012) sugerem que se utilizem os coeficientes de variação genético como pesos econômicos por serem diretamente proporcionais à variância genética dos caracteres, como utilizado no presente trabalho. No entanto, Santos et al. (2007) verificaram que o uso do coeficiente de variação genética como peso econômico foi inadequado, visto que não proporcionou ganhos genéticos satisfatórios.

O Índice Clássico por coeficiente de variação genotípica estimou os maiores ganhos totais, sendo este o que gerou o maior ganho em produção (Tabela 3). No entanto, este índice proporcionou maior incremento para a espessura da casca do fruto (12,82%). O  $ISH_2$  obteve progressos genéticos favoráveis, proporcionando ganhos genéticos satisfatórios para todas as características avaliadas (Tabela 4). Com este índice foi possível prever bom ganho para produção total de frutos e menor incremento para casca do fruto quando comparado aos outros critérios de seleção, além disso, não houve alteração significativa nas demais variáveis. Isso ocorreu pelo fato de os valores terem sido testados até a obtenção de ganhos satisfatórios para produção total de frutos, sem impacto negativo em outros caracteres.

**Tabela 4.** Ganhos genéticos pelo Índice Clássico utilizando peso por tentativa, média original e a média selecionada.

	Característica				
	PT	EM	EC	RP	CM/DM
GS%	26,85	-1,19	6,6	-0,22	-1,54
X <sub>o</sub>	18365,10	11,90	2,06	1,36	1,16
X <sub>s</sub>	20946,40	12,00	2,09	1,35	1,15

GS%: ganho de seleção em porcentagem; X<sub>o</sub>: média original; X<sub>s</sub>: média selecionada; PT: produção total de frutos por planta; EM: espessura do mesocarpo; EC: espessura da casca; RP: rendimento da polpa; CM/DM: relação do comprimento e diâmetro do fruto.

Mesmo com a utilização dos diferentes critérios de seleção, houve pequena variação nas estimativas de ganhos para produção e nos ganhos genéticos preditos totais. Foi possível observar que a seleção direta e o ISH<sub>1</sub> selecionaram as mesmas quatro progênes, porém indivíduos diferentes (Tabela 5). O ISH<sub>2</sub> selecionou duas progênes já selecionadas, o que confirma a superioridade dessas famílias quanto aos caracteres avaliados. Maêda et al. (2001) ao avaliarem progênes de meio-irmãos de virola (*Virola surinamensis* Warb.), árvore utilizada na indústria madeireira, verificaram que os variados pesos econômicos não diferiram na predição de ganhos genéticos, identificando as mesmas famílias e os mesmos indivíduos dentro da família. Já Oliveira et al. (2008) obtiveram diferentes proporções de estimativas de ganho genético na seleção de progênes de meio-irmãos de maracujá, ao utilizarem diferentes pesos para a aplicação do índice clássico.

**Tabela 5.** Seleção Direta para produção total de frutos por planta, Índice de Smith (1936) e Hazel (1943) com dois pesos econômicos (ISH<sub>1;2</sub>), as progênes selecionadas e ganho percentual estimados conjuntamente para as sete características avaliadas.

Método	Progênie Selecionada	Ganho total %
SD	8 – 10 – 2 -17- 1	27,74
ISH <sub>1</sub>	10 – 8 – 2 – 17- 6	38,53
ISH <sub>2</sub>	8- 10-15 -2-12	29,33

ISH<sub>1</sub>: coeficiente de variação genética, ISH<sub>2</sub>: pesos econômicos por tentativas (1;5000;1;5000;1)

De certa forma, não há um critério de seleção superior a outro para a predição de ganhos genéticos. A estratégia de seleção depende da população estudada. Assim, há trabalhos nos quais a seleção direta foi mais eficiente que o índice de seleção (Martins et al., 2006), e em outros a predição do ganho foi superior com a utilização do índice (Paula et al., 2002). O índice clássico foi o critério que proporcionou ganhos satisfatórios na população estudada.

Para a cultura da goiaba devem-se utilizar estratégias de melhoramento que priorizem a obtenção de ganhos no número de frutos e, acompanhado do aumento de sua massa, garantindo o aumento da produtividade e a melhor aceitação do produto no mercado consumidor. Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que há possibilidades de implementação da seleção entre e dentro de progênies de goiabeira no intuito de se obter, utilizando o índice clássico, ganhos genéticos satisfatórios e equilibrados entre as variáveis analisadas.

### **3.1.5 CONCLUSÃO**

A variabilidade existente entre as progênies de goiabeira possibilitou o uso de estratégias de seleção com ganhos satisfatórios a fim de concentrar alelos favoráveis para características de interesse agrônomo. Com os processos de seleção direta, observou-se a maximização dos ganhos individuais, no entanto, quando aplicada à seleção indireta não foram obtidos ganhos favoráveis, pelo contrário, para muitas características, obtiveram-se ganhos negativos. Dessa forma, a seleção direta e indireta não foi eficiente para realizar a distribuição de ganhos esperados, adequada aos objetivos do presente trabalho. O índice de seleção clássico (Smith e Hazel) foi o critério de seleção que demonstrou os melhores resultados em termos de ganhos no número e peso do fruto, sendo indicado como estratégia de seleção mais adequada para o melhoramento genético na população estudada.

## **3.2 SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE GOIABEIRAS COM BASE NA AVALIAÇÃO DE MULTISAFRAS: ESTIMATIVAS DO COEFICIENTE DE REPETIBILIDADE, PRODUTIVIDADE, ESTABILIDADE E ADAPTABILIDADE VIA MODELOS MISTOS**

### **3.2.1 INTRODUÇÃO**

A goiabeira é a fruteira de maior valor econômico do gênero *Psidium*, seu fruto é conhecido em muitos lugares como maçã dos trópicos (Dhara et al., 2017). O Brasil destaca-se na produção dessa cultura, sendo o terceiro maior produtor de goiaba e o maior produtor mundial de goiaba vermelha (Pommer et al., 2009; Faostat, 2016). As goiabas são direcionadas ao mercado de frutas frescas e à indústria de processamento de sucos, doces e geleias.

Para que a produtividade aumente, é necessário que genótipos produtivos sejam selecionados com precisão. Contudo, espécies perenes, como a goiabeira, apresentam algumas peculiaridades que podem dificultar o melhoramento da cultura. A exigência de uma enorme área experimental, ciclo reprodutivo longo, acentuada oscilação anual de produção, sobreposição de geração e expressão dos caracteres ao longo de vários anos são algumas das características das espécies perenes (Pereira et al., 2013). Devido a essas características, é necessária a avaliação de multisafras para que os genótipos promissores sejam selecionados com maior nível de certeza.

Ao avaliar várias safras é possível conhecer o real potencial dos indivíduos. O fato das características referentes à produtividade serem de herança quantitativa aumenta a necessidade de se avaliar o mesmo indivíduo em diversos anos agrícolas, pois essas características são expressas por vários grupos gênicos, simultaneamente ou não.

Uma forma de selecionar com eficiência genótipos promissores ao longo das safras é mensurar o coeficiente de repetibilidade. Este coeficiente representa a porção da variação fenotípica que é mantida nas próximas mensurações (Marçal et al., 2016).

Diversos estudos têm sido realizados a fim de comprovar a importância do efeito dos anos em culturas perenes, como em laranjeira-doce (Negreiros et al., 2014), em guaranazeiro (Nascimento Filho et al., 2009) e em pessegueiro (Bruna et al., 2012). De acordo com esses estudos, para selecionar genótipos promissores com mais eficiência, o aumento do número de anos e locais avaliados é mais vantajoso do que aumentar o número de progênies avaliadas. Dessa forma, é necessário que se busque alternativas para realizar as estimativas genéticas de forma mais robusta e obter resultados efetivos em menor prazo. Apesar da importância das medidas repetidas para caracteres relativos à produtividade em espécies perenes, ainda não há relatos de estudos com essa abordagem em goiabeiras. Nesse sentido, estudos com esse foco permitem auxiliar no programa de melhoramento da goiabeira.

A abordagem que melhor se aplica ao estudo de espécies perenes é a máxima verossimilhança restrita (REML) e a melhor predição linear não viesada (BLUP-*Best Linear Unbiased Prediction*) pela metodologia dos Modelos Mistos, pois estas permitem estimar os componentes de variância e a prever os valores genéticos do indivíduo, respectivamente (Resende e Duarte, 2007). Essas análises, em conjunto, geram resultados mais acurados, uma vez que maximizam os ganhos genéticos obtidos, em especial quando se trata de parcelas desbalanceadas (Verardi et al., 2009). Com os componentes de variância é possível estimar os parâmetros genéticos da população, dentre os quais se destacam a herdabilidade e a repetibilidade.

Os modelos mistos têm sido utilizados em muitas espécies perenes, como em cedro australiano (Ferreira et al., 2012), em café (Pereira et al., 2013) e em eucalipto (Harder et al., 2016), a fim de prever valores genéticos mais acurados

e estimar a repetibilidade das variáveis, o que permite inferir o número mínimo de avaliações necessárias.

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo estimar o coeficiente de repetibilidade das características referentes à produção da goiabeira, a fim de inferir qual o número mínimo de avaliações é necessário para identificar genótipos superiores de goiabeira, além de verificar a adaptabilidade e estabilidade das progênes e prever ganhos genéticos entre e dentro das melhores famílias de goiabeira em várias safras.

### **3.2.2 REVISÃO**

#### **3.2.2.1 Seleção de genótipos via REML/BLUP em plantas perenes**

Os componentes de variância são geralmente estimados pelo método dos quadrados mínimos, ou ANOVA, isso se deve a simplicidade do método. No entanto, nem sempre é possível explorar toda a informação genótipo-ambiente por essa abordagem estatística. Esse método exige que algumas condições sejam seguidas para que as estimativas sejam precisas e não tendenciosas como, por exemplo, parcelas balanceadas (Hu, 2015).

As espécies perenes apresentam aspectos biológicos que dificultam a obtenção de experimentos com as condições exigidas pelo método dos quadrados mínimos (ANOVA). Aspectos como ciclo reprodutivo longo, o que exige precisão nos métodos de seleção; expressão dos caracteres ao longo de vários anos; desbalanceamento provocado por morte de plantas; necessidade de medições repetidas em um mesmo indivíduo durante vários anos ou épocas, o que gera dados correlacionados (Viana e Resende et al., 2014). Sabendo que uma das pressuposições da análise de variância é a independência e homogeneidade dos erros, mensurar o mesmo indivíduo em várias safras fere esse princípio, pois essas são correlacionadas ao longo do tempo. Com isso, deve-se lançar mão de estratégias que permitam analisar com precisão espécies perenes.

Henderson (1949) propôs a metodologia dos modelos mistos a fim de avaliar os parâmetros genéticos em animais. Mas apenas na década de 80 os modelos

mistos foram difundidos devido aos avanços tecnológicos (Resende, 2002). Os modelos mistos são caracterizados pela presença de um ou mais efeitos fixos, além da média geral, e um ou mais efeitos aleatórios, além do erro experimental, sendo possível obter estimativas para os efeitos fixos e previsões para os efeitos aleatórios em conjunto (Resende, 2007). Assim, a utilização dos modelos mistos permite utilizar os dados de plantas perenes com maior precisão na seleção, predizendo maiores ganhos genéticos confiáveis.

Neste modelo os efeitos ambientais podem ser considerados fixos ou aleatórios, e os efeitos de tratamentos geralmente são considerados como efeitos aleatórios. Esta abordagem gera estimativas nos efeitos fixos e previsões dos efeitos aleatórios com alta acurácia de seleção, simultaneamente, mesmo quando há parcelas perdidas, fornecendo valores genéticos e não fenotípicos (Resende, 2004).

O modelo linear misto é representado pelo seguinte modelo:

$$y = X\beta + Z\tau + \varepsilon ,$$

Sendo  $y$ : vetor conhecido de observações;

$\beta$  : vetor paramétrico de efeitos fixos, com matriz de incidência  $X$ ;

$\tau$ : vetor paramétrico de efeitos aleatórios, com matriz de incidência  $Z$ ;

$\varepsilon$  : vetor aleatório de erros;

O BLUP (*Best Linear Unbiased Predictor* - melhor preditor linear não viesado) maximiza a acurácia seletiva (Resende, 2007; Farias Neto et al., 2009) e utiliza todos os efeitos do modelo em conjunto, o que permite a análise de dados com estrutura desbalanceada e utiliza a matriz de parentesco genético entre os indivíduos (Resende, 2007; Pinheiro et al., 2013). Além disso, o Blup apresenta outras características que auxiliam no melhoramento vegetal, tais como: possibilitar a estimação e previsão não-viesada em único método; considerar os efeitos da seleção ao longo das gerações quando os parentescos dos indivíduos são conhecidos; prever os valores genéticos dos indivíduos; minimizar as variâncias residuais em relação a outros métodos (Teodoro et al., 2016). Contudo, para que se utilize a metodologia Blup para previsão dos efeitos genéticos, é necessário que se conheçam os componentes de variância.

O método para a estimação dos componentes de variância que traz estimativas mais precisas em plantas perenes é a Máxima Verossimilhança Restrita

(REML). Este método foi baseado no método de verossimilhança, mantendo as propriedades de não ser viesado e não permitir a negatividade, sendo incrementada a possibilidade de gerar estimativas distintas para efeitos fixos e aleatórios, o que forneceu resultados favoráveis com parcelas desbalanceadas (Bernardo et al., 2010).

As principais vantagens da metodologia REML/BLUP na estimação simultânea de parâmetros genéticos e predição de valores genéticos são: comparar genótipos através do tempo e espaço; não exigir dados obtidos sob estruturas rígidas de experimentação; permitir a simultânea correção para os efeitos ambientais, estimação de componentes de variância e predição de valores genéticos; permitir lidar com estruturas complexas de dados, como medidas repetidas, diferentes anos, locais e delineamentos; possibilitar a utilização de dados com estrutura desbalanceada; permitir utilizar simultaneamente grande número de informações, provenientes de diferentes gerações, locais e idades, gerando estimativas e predições mais concisas e precisas (Henderson, 1984; Resende, 2002).

Espécies perenes, em especial as florestais, têm aplicado a abordagem dos modelos mistos (Rocha et al., 2006; Costa et al., 2008) a fim de selecionar os genótipos promissores com maior acurácia. A seleção genotípica em fruteiras, utilizando esta abordagem, também tem sido considerada eficiente para a estimação dos componentes de variância bem com a predição de ganhos genéticos (Oliveira et al., 2012; Farias Neto et al., 2012).

### **3.2.2.2 Análise de medidas repetidas via modelos mistos**

O desempenho das plantas perenes pode variar nos primeiros anos, o que dificulta a seleção de genótipos promissores, pois muitas vezes há falta de uniformidade da produção nas diferentes colheitas dos pomares. Com isso, é preciso que os indivíduos sejam avaliados em várias safras para que a seleção seja realizada com precisão.

O cálculo do coeficiente de repetibilidade possibilita ao melhorista avaliar se a seleção por meio de características fenotípicas, geralmente referentes à produtividade, será confiável, isto é, se os genótipos superiores permanecerão promissores ao longo dos anos agrícolas. O coeficiente de repetibilidade é obtido

por meio de várias medições em um mesmo indivíduo, sendo possível estimar o número mínimo de avaliações que devem ser realizadas. Além disso, é possível reduzir o dispêndio de tempo, de gastos com insumos e de mão de obra para que a seleção de indivíduos geneticamente superiores seja feita com a acurácia desejada pelo pesquisador (CRUZ et al., 2012). Dessa forma, conhecer as estimativas do coeficiente de repetibilidade em goiabeira permite estimar o valor real do indivíduo, o que gera ao melhorista informações completas e precisas a respeito das progênes, e menores custos com a fenotipagem.

Segundo Cruz e Regazzi (2001), a repetibilidade consiste na proporção da variância total que é explicada pelas variações genóticas e alterações permanentes atribuídas ao ambiente comum. Falconer, (1987) diz que quanto maiores os valores do coeficiente de repetibilidade da variável analisada mais precisa será a predição do valor real dos indivíduos em um número menor de medições.

Devido à importância dessa análise para o melhoramento de espécies perenes, estudos com pessegueiro (Bruna et al., 2012), pinhão manso (Laviola et al., 2013), e eucalipto (Araujo et al., 2015) tem lançado mão dessa estratégia. De acordo com trabalhos são necessários alguns anos agrícolas para que se possua uma constância na produtividade, visto que são caracteres quantitativos, logo sofrem influência ambiental.

### **3.2.3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.2.3.1 População estudada**

O experimento foi realizado no município de Campos dos Goytacazes, RJ, sendo avaliadas 10 progênes de irmãos completos, dispostas em delineamento em blocos completos, com 12 plantas por parcela, representadas em dois blocos. Essas famílias foram obtidas pelo cruzamento de genitores divergentes em nível molecular (Pessanha et al., 2011). O plantio foi realizado no ano de 2008, sendo avaliadas duas safras em 2012, uma em 2014 e outra em 2015. Muitas plantas foram perdidas ao longo do experimento, sendo avaliados 119 indivíduos em quatro safras anuais.

### 3.2.3.2 Variáveis avaliadas

As observações foram feitas em nível de indivíduo para cada uma das quatro safras, sendo avaliados: o número de frutos por planta (NF), massa dos frutos (MF), e a produção total (PT). A contagem do número de frutos foi realizada em cada indivíduo desde o início da frutificação até o final da colheita. A massa dos frutos (MF) por indivíduo foi obtida por uma amostragem de 10 frutos por indivíduo, utilizando balança analítica expressa em gramas. Já a produção total dos indivíduos resultou da multiplicação do número total de frutos pela massa dos frutos, expressa em gramas.

### 3.2.3.3 Análise estatística

Com o desbalanceamento das parcelas ao longo das safras, o uso dos modelos mistos é a melhor forma de avaliar a repetibilidade e prever os ganhos genéticos com maior precisão.

Para essas características foi realizada a análise de *deviance*, a estimação dos parâmetros genéticos e predição dos ganhos genéticos pelos modelos mistos, bem como a análise de adaptabilidade e estabilidade dos genótipos.

A predição dos valores genéticos foi realizada utilizando a abordagem dos modelos mistos, sendo adotado um modelo de acordo com a equação descrita abaixo:

$$y = Xm + Za + Wp + Qi + Ts + e,$$

em que  $y$  é o vetor de dados;  $m$  é o vetor dos efeitos das combinações medição-repetição (assumidos como fixos) somados à média geral;  $a$  é o vetor dos efeitos genéticos aditivos individuais (assumidos como aleatórios);  $p$  é vetor dos efeitos de parcela (aleatórios);  $i$  é o vetor dos efeitos da interação genótipos  $\times$  medições (aleatórios);  $s$  é o vetor dos efeitos permanentes (aleatórios) e  $e$  é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios);  $X$  é a matriz de incidência dos efeitos fixos;  $Z$  é a matriz de incidência dos efeitos genéticos individuais;  $W$  é a matriz de incidência dos efeitos de parcela;  $Q$  é a matriz de incidência dos efeitos da interação genótipos  $\times$  medições;  $T$  é a matriz de incidência dos efeitos permanentes. O vetor  $m$  contempla

todas as medições em todas as repetições e ajusta, simultaneamente, para os efeitos de repetições, medição e interação repetições x medições.

As equações do modelo misto foram dadas por:

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z & X'W & X'Q & X'T \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}\lambda_1 & Z'W & Z'Q & Z'T \\ W'X & W'Z & W'W + I\lambda_2 & W'Q & W'T \\ Q'X & Q'Z & Q'W & Q'Q + I\lambda_3 & Q'T \\ T'X & T'Z & T'W & T'Q & T'T + I\lambda_4 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{m} \\ \hat{a} \\ \hat{p} \\ \hat{i} \\ \hat{s} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \\ W'y \\ Q'y \\ T'y \end{bmatrix}$$

Em que:  $\sigma^2_g$ : é a variância genotípica;  $\sigma^2_a$ : é a variância aditiva;  $\sigma^2_p$ : é a variância efeitos da parcela;  $\sigma^2_i$ : é a variância dos efeitos da interação genótipo versus medições;  $\sigma^2_s$ : é a variância dos efeitos permanentes;  $\sigma^2_e$ : é a variância residual entre as parcelas;

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_a^2 + \sigma_p^2 + \sigma_i^2 + \sigma_s^2 + \sigma_e^2}, \text{ herdabilidade individual}$$

$$p = \frac{\sigma_c^2}{\sigma_a^2 + \sigma_p^2 + \sigma_i^2 + \sigma_s^2 + \sigma_e^2}, \text{ coeficiente de determinação dos efeitos de parcela}$$

$$i = \frac{\sigma_i^2}{\sigma_a^2 + \sigma_p^2 + \sigma_i^2 + \sigma_s^2 + \sigma_e^2}, \text{ coeficiente de determinação dos efeitos da interação genótipo x medições}$$

$$s = \frac{\sigma_s^2}{\sigma_a^2 + \sigma_p^2 + \sigma_i^2 + \sigma_s^2 + \sigma_e^2}, \text{ coeficiente de determinação dos efeitos permanentes.}$$

A: matriz de parentesco genético aditivo entre os indivíduos

Conforme o modelo descrito, a *deviance* foi obtida por:

$$D = -2\ln(L)$$

$$\ln(L) = -1/2\ln|X'V^{-1}X| - 1/2\ln|V| - 1/2(y - Xm)'V^{-1}(y - Xm)$$

Em que:  $\ln(L)$  é o ponto máximo da função logarítmica da máxima verossimilhança restrita (REML) (Patterson e Thompson, 1971);  $y$  é o vetor da variável analisada;  $m$  é o vetor dos efeitos das mensurações, no qual são assumidas fixas e adicionadas todas as médias;  $X$  é a matriz de incidência para os efeitos fixos; e  $V$  a matriz de variância e covariância de  $y$ .

O teste estatístico LRT (*likelihood ratio test*) foi utilizado para testar a significância dos efeitos, este foi obtido por:

$$\text{LRT: } |-2\ln(L_{se}) + 2\ln(L_{mc})$$

Em que:  $L_{se}$  é o ponto máximo da função de máxima verossimilhança para o modelo reduzido (sem os efeitos), e  $L_{mc}$  é o ponto máximo da função de máxima verossimilhança para o modelo completo.

Os componentes da variância para o cálculo do coeficiente de repetibilidade foram estimados com o procedimento da máxima verossimilhança restrita (REML), sendo repetibilidade em nível de parcela ( $\rho$ ) estimada por:

$$\rho = \frac{(V_g + V_{perm})}{V_f} \quad \rho = \frac{\sigma_a^2 + \sigma_p^2 + \sigma_s^2}{\sigma_a^2 + \sigma_p^2 + \sigma_i^2 + \sigma_s^2 + \sigma_e^2}$$

Onde  $V_g$  é a variância genética entre as plantas,  $V_{perm}$  é a variância dos efeitos permanentes, e a  $V_f$  é a variância fenotípica;

Foram estimados, também, a herdabilidade no sentido amplo em nível individual ( $h^2_g$ ), ou seja, dos efeitos genotípicos; coeficiente de determinação dos efeitos permanentes ( $c^2_{perm}$ ); coeficiente de determinação dos efeitos de parcela ( $c^2_{parc}$ ); coeficiente de determinação dos efeitos da interação genótipo x colheitas ( $c^2_{gm}$ ); a determinação genética ( $R_2$ ) e a acurácia seletiva após várias medições.

A estimação da estabilidade foi obtida pelo método MHVG (Média Harmônica dos valores genéticos) dada pelo estimador:  $MHVG_i = \frac{n}{\sum_{j=1}^n (\frac{1}{Vg_{ij}})}$ , onde  $n$  representa o número de ambientes ou colheitas ( $n=4$  colheitas),  $i$  é o genótipo avaliado, e  $Vg_{ij}$  é o valor genotípico do genótipo  $i$  no ambiente  $j$ . A adaptabilidade foi mensurada pelos valores de PRVG (performance relativa dos valores genotípicos), conforme a expressão:  $PRVG_i = \frac{1}{n} \times (\frac{\sum_{j=1}^n Vg_{ij}}{M_j})$ , sendo  $M_j$  a média da variável analisada (massa do fruto, do número de fruto e da produtividade de goiabas), no ambiente  $j$ .

Pelo método MHPRVG (média harmônica dos valores genéticos preditos) foi realizada a seleção dos melhores indivíduos dentro de cada progênie que se destacaram, baseada em três aspectos: seleção baseada no valor genético predito, considerando o desempenho médio em todas as safras (sem efeito de interação); seleção baseada no valor genético predito, considerando o desempenho médio em

cada safra (com efeito da interação média) e sem efeito da interação; seleção simultânea quanto a produção, estabilidade (MHVG) e adaptabilidade (PRVG).

Esta seleção conjunta é dada por  $MHPRVG_i = \frac{n / (\sum_{j=1}^n x_j)}{vg_{ij}}$ .

Para a abordagem REML/BLUP, bem como para a adaptabilidade e estabilidade foi utilizado o modelo 62 do programa computacional SELEGEN, em que avaliaram um local e várias colheitas (Resende, 2002). Foram selecionadas as melhores famílias e os 30 genótipos promissores para cada característica.

### 3.2.4 RESULTADOS

A variância fenotípica foi desmembrada em variância genética, variância da interação genótipos x medições, variância de efeitos permanentes e variância residual temporária. Constatou-se que a contribuição da variância genética foi pequena, predominando os efeitos ambientais, com destaque para os efeitos temporários (Tabela 1). Conseqüentemente, a herdabilidade individual obtida para as variáveis estudadas foram de baixas magnitudes, contudo os menores valores foram encontrados para massa do fruto (Tabela 1).

Os efeitos da interação genótipos x medições e o coeficiente de determinação dos efeitos permanentes explicaram cerca de 11% da variação total em colheitas de plantas individuais para todas as variáveis. Como esperado para variáveis quantitativas, o coeficiente de repetibilidade para as variáveis estudadas foi de baixa magnitude, sendo 0,14, 0,27 0,24 para massa do fruto, número de frutos e produção total, respectivamente (Tabela 1). No entanto, esses valores são consideráveis quando se trata de espécies perenes (Viana e Resende, 2014).

**Tabela 1.** Componentes de variância obtidos pelo REML individual para massa do fruto (MF), número de frutos por planta (NF) e produção total dos frutos em famílias de irmãos completos de *P. guajava* avaliadas em quatro safras.

Componentes de variância			
	MF (g)	NF	PT(g/pl)
V <sub>g</sub>	9,02	283,30	8295665
V <sub>parc</sub>	87,73	177,55	1408524
V <sub>gm</sub>	220,57	377,84	7963166
V <sub>perm</sub>	177,63	422,24	8874334
V <sub>e</sub>	1387,56	2130,17	49195395
V <sub>f</sub>	1882,52	3391,12	75737083
h <sup>2</sup> <sub>g</sub>	0,0047	0,083	0,10
c <sup>2</sup> <sub>parc</sub>	0,046	0,052	0,018
c <sup>2</sup> <sub>gm</sub>	0,11	0,11	0,10
c <sup>2</sup> <sub>perm</sub>	0,094	0,12	0,11
R	0,14	0,26	0,24
R <sub>gmed</sub>	0,039	0,42	0,51
Média geral	187,03	90,91	15835,64

V<sub>g</sub>: variância genotípica entre progênes (1/4 da variação aditiva); V<sub>parc</sub>: variância ambiental entre parcelas; V<sub>gm</sub>: variância da interação genótipos x medições; V<sub>perm</sub>: variância dos efeitos permanentes; V<sub>e</sub>: variância residual temporária; V<sub>f</sub>: variância fenotípica individual; h<sup>2</sup><sub>g</sub>= herdabilidade entre progênes em nível individual; r: repetibilidade individual; c<sup>2</sup><sub>parc</sub>: coeficiente de determinação dos efeitos de parcelas; c<sup>2</sup><sub>gm</sub>: coeficiente de determinação dos efeitos da interação genótipos x medições. c<sup>2</sup><sub>perm</sub>: coeficiente de determinação dos efeitos permanentes. r<sub>gmed</sub>: correlação genotípica através das medições; a média geral do experimento.

Pela análise de *deviance* foi possível verificar que apenas para produção total os efeitos de progênie foram significativos (Tabela 2). Em contrapartida, para todas as variáveis analisadas, os efeitos da interação genótipos x colheitas foram altamente significativos.

**Tabela 2:** Análise de *Deviance* para número de frutos, massa dos frutos e produção total em famílias de irmãos completos de *P. guajava*, avaliadas em quatro safras

Fonte	Número de Frutos		Massa dos Frutos (g)		Produção Total (kg)	
	Deviance	LRT	Deviance	LRT	Deviance	LRT
Genótipo	4172,51	1,36	3944,45	0	8827,24	3,21*
Parcela	4173,88	2,73	3946,23	1,77	8824,59	0,56
Genótipo x Colheitas	4192,58	21,43**	3962,25	17,79**	8845,47	21,44**
Ambiente permanente	4185,4	14,5**	3951,28	6,82**	8836,34	12,31**
Modelo completo	4171,15		3944,46		8824,03	

\*significativo a 5%, \*\*significativo a 1%

De acordo com a predição feita pelo Blup para 12 safras, houve um aumento significativo da determinação genética de 0,26 para 0,64 e de 0,24 para 0,61 até a quinta safra para número de frutos e produção total, respectivamente. Esses valores proporcionaram maiores incrementos na acurácia e eficiência (Tabela 3). A partir da quinta avaliação os incrementos foram pequenos. Em contrapartida, para massa do fruto a partir da décima avaliação predita foi obtido coeficiente de determinação de 0,62 e os incrementos foram menores a partir da nona avaliação (Tabela 3).

**Tabela 3.** Eficiência das medidas repetidas preditas pelo Blup para número de frutos, massa do fruto e produção total em famílias de irmãos completos de goiabeira, avaliadas em quatro safras

m	Número de fruto				Massa do fruto				Produção total			
	$h^2_{med}$	R	$A_{cm}$	Ef	$h^2_{med}$	r	$A_{cm}$	EF	$h^2_{med}$	r	$A_{cm}$	EF
1	0,08	0,26	0,29	1	0,05	0,14	0,22	0,77	0,11	0,24	0,33	1,15
2	0,13	0,41	0,36	1,26	0,09	0,25	0,3	1,02	0,18	0,39	0,42	1,46
3	0,16	0,51	0,41	1,4	0,12	0,33	0,34	1,18	0,22	0,49	0,47	1,63
4	0,19	0,58	0,43	1,5	0,14	0,39	0,38	1,3	0,26	0,56	0,51	1,75
5	0,2	0,64	0,45	1,57	0,16	0,45	0,4	1,39	0,28	0,61	0,53	1,83
6	0,22	0,68	0,47	1,62	0,18	0,49	0,42	1,45	0,3	0,65	0,55	1,9
7	0,23	0,71	0,48	1,65	0,19	0,53	0,44	1,51	0,32	0,69	0,56	1,94
8	0,24	0,74	0,49	1,68	0,2	0,57	0,45	1,56	0,33	0,72	0,57	1,98
9	0,24	0,76	0,49	1,71	0,21	0,59	0,46	1,59	0,34	0,74	0,58	2,01
10	0,25	0,78	0,5	1,73	0,22	0,62	0,47	1,63	0,35	0,76	0,59	2,04
11	0,26	0,79	0,51	1,75	0,23	0,64	0,48	1,66	0,36	0,78	0,6	2,06
12	0,26	0,81	0,51	1,76	0,24	0,66	0,49	1,68	0,36	0,79	0,6	2,08

Coeficiente de determinação da repetibilidade (r), acurácia dos valores fenotípicos permanentes baseados em m anos de avaliação ( $A_{cm}$ ) e eficiência das m avaliações, comparadas com a situação em que apenas uma avaliação é realizada (Ef).

Considerando as cinco progênes mais promissoras, os ganhos genéticos preditos foram satisfatórios para número de frutos (11% a 18%) e produção total (12% a 22%). No entanto, para massa do fruto, os ganhos estimados foram de baixa magnitude, quase nulos, sendo que a melhor progênie obteve ganhos de 0,52% (Tabela 4). Verificou-se que as melhores progênes selecionadas para número de frutos também foram selecionadas para produção total, o que não ocorreu com a variável massa do fruto. Apenas a progênie 10 foi selecionada para ambas as variáveis (Tabela 4).

**Tabela 4:** Ordenamento, ganho predito e a nova média, para número de frutos, massa dos frutos e produção total das melhores progênie de irmãos completos de *P. guajava*, avaliadas em quatro safras

Número de frutos						
Ordem	Progênie	G	u + g	Ganho(%)	Nova Média	u+g+gem
1	8	16,37	107,29	18,01	107,29	112,75
2	12	14,41	105,33	16,93	106,31	110,14
3	17	8,36	99,28	14,35	103,97	102,07
4	2	7,38	98,30	12,79	102,55	100,76
5	10	6,11	97,03	11,58	101,45	99,06
Massa do fruto						
Ordem	Progênie	G	u + g	Ganho	Nova Média	u+g+gem
1	15	0,99	188,02	0,53	188,02	194,06
2	13	0,79	187,82	0,48	187,92	192,66
3	6	0,29	187,32	0,37	187,72	189,09
4	1	0,26	187,29	0,31	187,61	188,87
5	10	0,21	187,24	0,27	187,54	188,51
Produção total						
Ordem	Progênie	G	u + g	Ganho	Nova Média	u+g+gem
1	8	3518,70	19354,34	22,22	19354,34	20198,76
2	12	2176,20	18011,80	17,98	18683,07	18534,03
3	10	1758,93	17594,58	15,69	18320,24	18016,69
4	17	1126,11	16961,76	13,55	17980,62	17232,00
5	2	1052,28	16887,93	12,17	17762,08	17140,45

Houve coincidência no ordenamento das progênie mais produtivas pelos critérios de adaptabilidade (PRVG), de estabilidade (MHVG), de ambos simultaneamente (MHPRVG) (Tabela 5) e, também, pela média genética livre da interação (u+g).

**Tabela 5.** Análise de estabilidade e adaptabilidade fenotípica em famílias de irmãos-completos de *P. Guajava*

Número de frutos								
Ordem	Genótipo	MHVG	Genótipo	PRVG	PRVG*MG	Genótipo	MHPRVG	MHPRVG*MG
1	8	107,27	8	1,24	112,84	8	1,22	111,06
2	12	105,17	12	1,22	111,33	12	1,18	106,98
3	2	98,23	2	1,12	101,4	2	1,11	100,73
4	10	94,61	17	1,09	99,52	10	1,08	98,03
5	17	89,95	10	1,08	98,48	17	1,05	95,84
6	15	82,49	15	0,93	84,87	15	0,92	84,08
7	1	78,25	1	0,88	80,41	1	0,88	80,35
8	11	71,65	11	0,83	75,5	11	0,82	74,64
9	13	68,29	6	0,8	73,02	6	0,77	69,86
10	6	66,82	13	0,79	71,81	13	0,76	68,92
Massa do fruto								
Ordem	Genótipo	MHVG	Genótipo	PRVG	PRVG*MG	Genótipo	MHPRVG	MHPRVG*MG
1	15	190,90	15	1,04	193,65	15	1,03	193,47
2	13	190,59	13	1,03	192,98	13	1,03	192,45
3	10	187,13	10	1,01	189,01	10	1,01	188,76
4	1	185,09	1	1,01	188,35	1	1	187,81
5	6	184,75	6	1,01	188,28	6	1	187,57
6	11	184,22	17	1	187,56	17	1	186,57
7	17	183,98	11	0,99	186,07	11	0,99	185,9
8	8	181,91	8	0,98	183,98	8	0,98	183,48
9	2	181,23	2	0,98	182,83	2	0,98	182,57
10	12	175,00	12	0,95	177,62	12	0,95	177,14
Produção total								
Ordem	Genótipo	MHVG	Genótipo	PRVG	PRVG*MG	Genótipo	MHPRVG	MHPRVG*MG
1	8	19441,17	8	1,28	20277,14	8	1,25	19843,87
2	12	18036,06	12	1,18	18695,12	12	1,16	18300,4
3	10	17456,41	10	1,13	17951,61	10	1,13	17925,06
4	2	16506,36	17	1,08	17051,58	2	1,07	16980,08
5	17	16344,12	2	1,08	17032,24	17	1,07	16890,34
6	15	15353,33	15	0,99	15642,12	15	0,98	15550,13
7	1	14097,39	1	0,91	14390,42	1	0,9	14315,77
8	11	11878,38	6	0,8	12596,05	11	0,78	12333,33
9	13	11850,71	11	0,79	12471,62	6	0,75	11938,15
10	6	11366,29	13	0,77	12248,56	13	0,75	11858,54

MHVG: Média Harmônica dos Valores Genéticos; MHPRVG: Média Harmônica da Performance Relativa dos Valores Genéticos; MHPRVG\*MG: Média Harmônica da Performance Relativa dos Valores Genéticos relativa dos valores genotípicos; PRVG\*MG: performance relativa dos valores genotípicos multiplicado PRVG: performance relativa dos valores genotípicos; PRVG\*MG: performance relativa dos valores genotípicos multiplicados pela média geral

Os 30 melhores indivíduos foram selecionados. É possível notar que as progênes promissoras foram mantidas, apenas foi alterado o ordenamento dessas (Tabela 6). Os genótipos que mais se destacaram foram encontrados no bloco 2, sendo as últimas medições as mais produtivas. Em nível de indivíduo pode-se perceber que os ganhos preditos foram maiores que os obtidos para média das progênes em ambas as variáveis. Para número de frutos houve o ganho predito que variou de 114 a 238 frutos, quando considerada a massa média do fruto o incremento variou de 48,54 a 81,84 gramas. Por conseguinte, houve um incremento na produção total com uma nova média, duas vezes maior que a média das progênes, para todos os 30 genótipos selecionados. Destaca-se ainda que o valor aditivo predominou sobre os desvios de dominância em todas as variáveis.

**Tabela 6:** Estimativas de ganhos genéticos considerando os 30 melhores indivíduos, para as variáveis: número de frutos, massa do fruto e produção total em goiabeira com quatro safras.

Ordem	Bloco	Medição	Progênie	Planta	Número de frutos					
					a	u+a	Ganho	Nova Média	d	g
1	2	4	17	3	238,24	329,16	238,24	329,16	71,24	309,48
2	2	2	17	3	214,46	305,38	226,35	317,27	51,39	265,85
3	1	2	12	1	174,64	265,56	209,11	300,03	33,23	207,87
4	2	4	2	7	168,99	259,91	199,08	290,02	51,23	220,22
5	2	1	12	3	143,49	234,41	187,96	278,88	23,37	166,86
6	2	2	12	3	136,45	227,32	179,37	270,29	19,59	155,99
7	1	4	8	6	129,28	220,20	172,21	263,13	18,96	148,24
8	2	3	17	3	120,91	211,83	165,80	256,24	16,27	137,19
9	1	2	10	4	118,20	209,12	160,51	251,43	26,79	145,00
10	1	3	8	1	116,33	207,25	156,09	247,18	25,17	141,50
11	1	4	2	4	114,07	204,98	152,27	243,14	32,13	146,20
12	2	4	12	10	110,00	200,92	148,75	239,67	33,29	143,29
13	2	4	8	2	108,59	199,51	145,66	236,58	10,04	118,63
14	2	3	17	6	102,79	193,71	142,60	233,52	17,21	120,01
15	2	1	15	5	100,52	191,44	139,79	230,71	28,61	129,14
16	2	3	8	2	99,87	190,79	137,30	228,22	19,57	119,44
17	2	2	8	2	98,42	189,34	135,01	225,93	23,90	122,29
18	2	4	12	3	97,22	188,15	132,91	223,83	26,30	123,53
19	2	4	8	6	92,91	183,83	130,81	221,73	7,09	100,01
20	1	2	8	1	92,12	183,04	128,87	219,76	21,61	113,73
21	1	2	10	6	91,10	182,02	127,07	217,81	16,59	107,71
22	1	4	8	5	91,05	181,97	125,44	216,35	6,24	97,29
23	2	1	12	2	89,80	180,71	123,89	214,81	8,44	98,25
24	2	3	8	10	85,60	176,51	122,29	213,21	16,22	101,81
25	1	4	8	1	84,99	175,90	120,80	211,22	1,75	86,75
26	1	1	12	1	82,17	173,08	119,31	210,23	2,51	84,68
27	1	3	2	4	81,72	172,63	117,92	208,84	11,32	93,05
28	2	3	2	6	80,82	171,73	116,59	207,51	13,47	94,29
29	1	2	10	3	80,46	171,38	115,35	206,27	13,76	94,24
30	2	1	2	5	80,32	171,23	114,18	205,10	22,02	102,33

**Tabela 6:** Cont.

Ordem	Bloco	Medição	Progênie	Planta	Massa do fruto					
					a	u+a	Ganho	Nova Média	d	g
1	1	1	6	3	81,84	268,88	81,84	268,88	12,20	94,05
2	2	4	17	5	71,25	258,28	76,55	263,58	19,44	90,70
3	1	3	15	1	66,05	253,08	73,05	260,08	11,62	77,68
4	2	3	10	6	64,14	251,17	70,82	257,85	21,21	85,36
5	2	3	8	6	61,00	248,03	68,86	255,89	16,64	77,64
6	1	4	10	4	60,81	247,84	67,51	254,55	14,25	75,07
7	1	4	6	4	57,79	244,83	66,13	253,16	23,51	81,31
8	1	4	1	3	57,21	244,25	65,01	252,04	13,01	70,23
9	2	2	13	2	54,23	241,26	63,81	250,85	6,90	61,13
10	2	4	8	8	53,21	240,24	62,75	249,79	21,36	74,58
11	2	4	10	4	50,64	237,68	61,65	248,69	10,69	61,34
12	2	1	17	1	49,71	236,74	60,66	247,69	3,42	53,14
13	2	1	6	3	48,95	235,98	59,76	246,79	0,68	49,63
14	1	1	6	4	47,62	234,65	58,89	245,92	0,21	47,83
15	2	2	8	9	46,48	233,51	58,06	245,10	13,85	60,34
16	1	2	8	5	43,71	230,74	57,17	244,20	12,88	56,60
17	2	4	2	9	42,94	229,97	56,33	243,36	14,86	57,81
18	2	1	15	4	42,45	229,49	55,56	242,59	10,46	52,94
19	2	2	13	4	42,18	229,22	54,85	241,89	2,66	44,87
20	2	2	13	1	40,51	227,55	54,14	241,17	2,10	42,62
21	2	1	17	6	40,34	227,38	53,48	240,51	0,15	40,50
22	1	1	6	6	40,14	227,17	52,87	239,91	2,40	37,74
23	2	3	12	1	38,98	226,02	52,27	239,30	9,75	48,74
24	1	2	2	1	38,65	225,69	51,70	238,74	10,7	49,35
25	2	1	6	6	36,91	223,95	51,11	238,14	3,53	33,38
26	1	3	15	2	36,05	223,08	50,53	237,56	1,11	37,17
27	1	1	6	2	35,93	222,96	49,99	237,02	3,87	32,05
28	2	3	15	5	35,64	222,67	49,48	236,51	0,97	36,61
29	2	4	2	5	35,42	222,45	48,99	236,03	12,23	47,65
30	1	4	2	1	35,38	222,41	48,54	235,57	12,21	47,59

**Tabela 6:** Cont.

Ordem	Bloco	Medição	Progênie	Planta	Produção total					
					a	u+a	Ganho	Nova Média	d	g
1	1	2	12	1	27944,13	43779,78	27944.13	43779.78	6679.77	34623.91
2	2	4	17	3	25662,28	41497,93	26803.21	42638.85	8404.83	34067.12
3	2	3	17	3	23305,84	39141,48	25637.42	41473.06	6127.37	29433.21
4	1	3	8	2	22217,45	38053,09	24782.42	40618.07	4663.32	26880.77
5	2	1	12	3	22191,12	38026,76	24264.16	40099.81	4650.83	26841.95
6	1	3	8	1	22134,09	37969,74	23909.15	39744.8	4558.87	26692.96
7	1	4	8	6	20567,98	36403,63	23431.84	39267.49	3418.19	23986.18
8	2	4	12	10	18296,13	34131,77	22789.88	38625.52	6558.81	24854.94
9	1	4	8	1	18234,16	34069,81	22283.69	38119.33	1908.76	20142.93
10	2	3	17	3	18034,13	33869,77	21858.73	37694.38	3572.22	21606.35
11	2	3	8	2	17794,63	33630,28	21489.27	37324.91	3264.07	21058.71
12	2	3	2	6	17605,66	33441,31	21165.63	37001.28	4279.06	21884.72
13	1	4	8	2	17373,02	33208,66	20873.89	36709.54	1642.42	19015.44
14	1	2	8	1	17154,53	32990,17	20608.22	36443.87	3941.20	21095.73
15	1	3	12	1	16787,54	32623,18	20353.51	36189.16	6880.67	23668.21
16	2	4	8	2	16476,16	32311,80	20111.18	35946.82	1627.39	18103.55
17	2	3	10	6	16386,71	32222,36	19892.09	35727.74	5016.89	21403.61
18	1	4	8	5	16374,67	32210,32	19696.68	35532.32	1537.32	17911.99
19	2	4	8	6	16250,63	32086,27	19515.31	35350.95	1702.58	17953.22
20	1	1	12	1	15925,88	31761,52	19335.84	35171.48	1769.09	17694.97
21	1	2	8	2	15913,64	31749,28	19172.88	35008.52	3525.78	19439.43
22	2	2	12	3	15716,78	31552,43	19015.78	34851.42	2301.69	18018.48
23	1	3	8	5	15713,32	31548,97	18872.19	34707.84	2396.76	18110.08
24	2	1	12	1	15695,62	31531,26	18739.84	34575.48	2280.59	17976.21
25	2	3	6	2	15551,42	31387,07	18612.3	34447.95	5777.59	21329.01
26	2	2	8	10	15414,53	31250,17	18489.31	34324.95	3816.79	19231.32
27	1	2	10	4	15301,74	31137,38	18371.25	34206.9	3559.37	18861.11
28	2	2	2	5	14967,9	30803,5	18249.7	34085.35	5054.32	20022.22
29	2	2	17	6	14953,06	30788,7	18136.03	33971.67	3407.32	18360.38
30	2	2	2	3	13626,65	29462,3	17985.71	33821.36	2626.33	16252.99

a: efeito aditivo; d: efeito de dominância; g: efeito genotípico predito; u + a: média genotípica ou valores genotípicos

### 3.2.5 DISCUSSÃO

A análise de dados de vários anos agrícolas possibilita estimar o coeficiente de repetibilidade. Por meio dessa estimativa é possível prever quantas avaliações são necessárias para que a seleção seja realizada com maior nível de confiança. Os parâmetros estimados de herdabilidade, repetibilidade individual e correlação genotípica por meio das safras são fundamentais para que o melhorista selecione, com precisão, indivíduos superiores.

O melhorista procura selecionar genótipos tão competitivos quanto as cultivares recomendadas. A população avaliada nesse estudo produz, em média, 90 frutos por planta com uma massa em torno de 187 gramas. A cultivar 'Paluma' está entre as mais plantadas nos pomares brasileiros, produz em média 188 frutos por planta com uma massa de fruto de 140 gramas (Cardoso et al., 2011). A média da massa do fruto das progênes avaliadas é maior que a massa das cultivares. Isso indica que a população estudada é promissora, no entanto, é necessário que haja um aumento no número de frutos para que a produção total dos frutos seja incrementada.

A estimativa dos componentes de variância, a partir do modelo misto (REML/BLUP), referente aos 119 genótipos avaliados nas quatro safras, indicou que a variância ambiental foi predominante na variância fenotípica, sugerindo que a variação ambiental de um ano para outro foi importante. Isso porque as variáveis avaliadas nesse estudo são quantitativas, controladas por genes de pequeno efeito e altamente influenciadas pelo ambiente. O fato de se tratar de plantas perenes jovens é outro fator que propicia o predomínio da variância ambiental, pois as plantas estão submetidas a diferentes intempéries climáticas anuais, contribuindo para que os potenciais fenotípicos sejam expressos em diferentes magnitudes ao longo dos anos (Pereira et al. 2013).

A predominância dos efeitos ambientais corroborou para que a interação genótipo x colheita fosse altamente significativa, como pode ser constatado pela análise de *deviance*. Isso causa um problema para o melhorista, pois há pouca coincidência entre os melhores genótipos nas safras avaliadas. Dessa forma, é necessário que se utilize um modelo que contemple esta interação genótipo x colheita, indicando com precisão os genótipos promissores. A análise de *deviance*

também mostrou que apenas para a variável produção total dos frutos houve diferença significativa entre os genótipos, o que demonstra variabilidade entre os genótipos avaliados, com possibilidades de ganho genético pela seleção de indivíduos superiores para essa variável.

Thaipong et al. (2006) verificaram a predominância das variâncias associadas às colheitas e à interação genótipo x colheitas para a firmeza dos frutos em goiaba, sugerindo que a avaliação deste carácter deve ser repetido por mais de uma época de colheita. Ao estimar a repetibilidade para a goiabeira-serrana (*Accasellowiana*), também foi encontrada alta variância ambiental, principalmente devido ao efeito dos anos, o que corrobora com o presente trabalho (Degenhardt et al., 2002).

A herdabilidade foi classificada por Resende (2002), sendo considerada baixa ( $h < 0,15$ ), mediana ( $0,15 < h < 0,50$ ) e de alta magnitude ( $h > 0,50$ ). Os valores dos coeficientes de determinação ou herdabilidade individual foram de baixa magnitude, o que provavelmente foi ocasionado pelos altos valores para variância ambiental. Além da alta influência do ambiente na expressão das características relacionadas à produção, a baixa magnitude da herdabilidade pode estar associada também com a estreita base genética da população utilizada, por se tratar de famílias de irmãos completos (Farias Neto e Resende, 2001).

Valores de baixa magnitude para herdabilidade em nível individual foram encontrados em outras culturas perenes como guaraná (0,06%) (Atroch et al. 2004) e café (0,07%) (Pereira et al. 2013), corroborando os resultados desse trabalho. Percebe-se que valores de pequena e média magnitude para herdabilidade são esperados, principalmente por se tratar de espécies perenes, suscetíveis a variações climáticas ao longo dos anos. A modelagem mista (REML/BLUP) permite ótimas estimativas mesmo com baixos valores de herdabilidade, o que não agravou os resultados. Esta abordagem considera os efeitos aleatórios do modelo estatístico associado às observações fenotípicas, e ajusta os dados aos efeitos fixos e ao número desigual de informações na parcela, o que permite que os dados sejam corrigidos minimizando os efeitos ambientais (Figueiredo et al., 2015). Isto permite que os problemas de desbalanceamento das parcelas, tais quais os encontrados neste trabalho, sejam devidamente corrigidos, o que auxilia no melhoramento da goiabeira (Rocha et al., 2006).

Os valores do coeficiente de repetibilidade encontrados nesse trabalho foram de baixa magnitude (Tabela 1). De acordo com Resende (2007), coeficientes com valores iguais ou menores que 0.30 são considerados baixos. Valores baixos de repetibilidade indicam que o desempenho dos indivíduos não é contínuo, o que torna necessário um maior número de avaliações no mesmo indivíduo para atingir valores ótimos de determinação genotípica. Isso concorda com a predição dos valores de determinação genotípica, acurácia e eficiência das medidas repetidas estimadas pelo Blup neste trabalho.

Em relação às estimativas de repetibilidade, valores de baixa magnitude para produção foram observados em plantas perenes, como pessegueiros (0,22) (Bruna et al. 2012), café (0,44) (Pereira et al. 2013) e amêndoas (Laviola et al. 2013), o que sugere que são necessárias várias avaliações em espécies perenes, principalmente quando se trata de variáveis referentes à produtividade. Isto se deve ao fato de a produção de frutos ser determinada por vários grupos gênicos que são expressos em diferentes estágios da planta. De acordo com Laviola et al. (2013), plantas perenes apresentam uma boa estabilidade após o quarto ano de colheita. Assim, quando se analisa a repetibilidade de genótipos que ainda não estão estabilizados, é comum que se obtenham valores de repetibilidade de baixa magnitude.

A partir da quinta safra predita houve um aumento na determinação genética e acurácia seletiva para produção total e número de frutos respectivamente, indicando que pelo menos cinco mensurações para número de frutos e produção total de frutos são necessárias para que a seleção dos genótipos seja realizada de forma segura. Assim, se for realizada mais uma avaliação nessa população, a probabilidade de se selecionar genótipos de goiabeira com alto desempenho agrônômico aumenta consideravelmente. Em contrapartida, para variável massa do fruto um incremento de 0,60 na determinação genética com 0,47 de acurácia, foi observado somente após a décima avaliação, o que possibilita inferir que a seleção visando esta variável necessita de diversas observações.

Degenhardt et al. (2002) avaliaram uma população de goiabeira-serrana e recomendaram 6, 10 e 5 medições para massa do fruto, comprimento do fruto e produtividade respectivamente, semelhante ao observado nesse estudo. Pereira et al. (2013) verificaram que são necessárias a avaliação de pelo menos quatro colheitas de café para que a seleção seja efetiva. Para a produção e número de

siriguelas são necessárias seis e quatro mensurações, respectivamente, para que o coeficiente de determinação seja satisfatório (Lira Junior et al., 2014).

De acordo com Sturion e Resende (2005), vários fatores influenciam no valor da acurácia seletiva, dentre eles pode-se destacar a herdabilidade, a repetibilidade do carácter, qualidade de informações e dos procedimentos utilizados na estimação dos valores genéticos. Quanto maior o valor da acurácia maior a credibilidade na avaliação e no valor genético predito, o que possibilita a seleção de genótipos promissores com maior precisão (Resende e Duarte, 2007). As baixas estimativas da herdabilidade e da repetibilidade podem ter contribuído para valores medianos da acurácia seletiva, no entanto, essas foram eficazes para direcionar o número mínimo de avaliações que devem ser realizadas na população. Com cinco mensurações para produção de frutos, a acurácia seletiva foi de 53, tendo um coeficiente de determinação em torno de 62%, valores estes apropriados para fase inicial do programa de melhoramento, em que visa selecionar genótipos promissores para dar continuidade ao programa.

De acordo com os critérios de adaptabilidade (PRVG), estabilidade (MHVG), e o método de seleção simultânea baseado no desempenho produtivo dos genótipos (MHPRVG), houve coincidência no ordenamento das progênes selecionadas para número de frutos e produção total. Isso indica que as progênes selecionadas apresentaram adaptabilidade, estabilidade, além de possuir alta produtividade de goiaba, ou seja, o predomínio desses atributos nos vários anos agrícolas. A manutenção do ordenamento dos genótipos para essas metodologias também ocorreu em trabalhos com cajueiro (Maia et al. 2009), café (Rodrigues et al. 2013) e algodão (Carvalho et al. 2016).

Em contrapartida, progênes que se destacaram para massa do fruto diferenciaram-se das mais promissoras em relação ao número de frutos e produção total. Isto evidencia que há uma correlação negativa entre massa e peso do fruto, isto é, plantas que produzem um maior número de frutos devem possuir massa média menor. No entanto, a seleção de diferentes progênes para massa do fruto não é um problema para essa população, pelo fato de toda a população já possuir uma massa média (184 gramas) superior a cultivar 'Paluma' (140 gramas) (Cardoso et al., 2011).

Conforme Cabonell et al., (2007) a seleção de progênes que considera estimativas de adaptabilidade e estabilidade dos genótipos permite que a

recomendação das progênies possua um maior refinamento. O método REML/BLUP gera resultados que são explicados diretamente como valores genotípicos, já penalizados ou capitalizados pelas estimativas de estabilidade e adaptabilidade (Carbonell et al., 2007; Verardi et al., 2009).

Mesmo com as baixas estimativas de herdabilidade, ganhos consideráveis foram obtidos com a seleção das cinco melhores progênies. Os ganhos preditos para produção total e número de frutos foram favoráveis e variaram de 12 a 22% e 12 a 18%, respectivamente. A variável massa do fruto não obteve ganhos satisfatórios. Com o incremento no número de frutos, a população de estudo será tão produtiva quanto à Paluma, cultivar presente na maioria dos pomares de goiaba.

Os ganhos genéticos preditos em nível de indivíduos foram superiores quando comparados com os ganhos preditos pelas progênies, isso se deve ao fato de os ganhos individuais preditos pelo Blup serem obtidos com base no valor genético do indivíduo e não na média da progênie. Os 30 indivíduos que se destacaram obtiveram a nova média superior à média original dos genótipos, o que sugere potencial para clonagem. Resultado semelhante foi encontrado por Alves et al. (2008b) em que o ganho para número de cupuaçu por planta obteve maior incremento quando se considerou os indivíduos do que quando as progênies foram analisadas.

Outra constatação importante na análise individual é o fato de o valor aditivo ter sido superior ao valor de dominância. Isto sugere que essas características serão transmitidas para os descendentes, visto que os valores aditivos são relativos aos alelos responsáveis pela transmissão dos caracteres. Dessa forma, os 30 primeiros indivíduos possuem potencial para serem utilizados como genitores na obtenção de nova família de irmãos completos.

Para a cultura da goiabeira, a propagação via clonal é preferida em relação à seminal, pois permite a manutenção da qualidade dos frutos e um incremento na produtividade em um curto espaço de tempo (Kareem et al., 2013). Além disso, a seleção individual, tendo em vista a propagação vegetativa, permite que toda a variância genética seja explorada, mantendo integralmente seu genoma (Maia et al., 2009). Dessa forma, os 30 melhores genótipos selecionados nesse trabalho têm potencial para serem utilizados como genitores em novos cruzamentos, dando

continuidade ao programa de melhoramento, como também serem clonados para ensaios de VCU, visando ao lançamento de uma nova cultivar de goiaba.

### **3.2.6 CONCLUSÃO**

Valores baixos de repetibilidade indicam que o desempenho dos indivíduos não é constante, o que indica a necessidade de mais de uma avaliação para a correta seleção dos indivíduos. É preciso realizar pelo menos cinco avaliações no mesmo indivíduo para que a seleção seja precisa.

Houve coincidência das progênies selecionadas para número de frutos e produção, sendo que a maioria dos genótipos selecionados para produção também foram selecionados para número de frutos.

Houve concordância entre as estatísticas MHVG, PRVG e MHPRVG, na escolha dos genótipos mais produtivos, adaptáveis e estáveis.

Os ganhos individuais foram superiores para produção e número de frutos, o que permite indicar os melhores genótipos como clones. O valor aditivo foi superior ao de dominância, assim, esses também podem ser utilizados posteriormente em novos cruzamentos.

### **3.3 MONITORAMENTO DE CRUZAMENTOS EM GOIABEIRA VIA MARCADORES MICROSSATÉLITES**

#### **3.3.1 INTRODUÇÃO**

A goiabeira é uma planta perene na qual a descoberta de resultados efetivos para o melhoramento demanda tempo, por isso é necessário que todas as etapas sejam realizadas com confiabilidade. Para isso é preciso utilizar estratégias de melhoramento adequadas, definidas de acordo com a característica a ser avaliada.

Uma maneira que possibilita aumentar a produtividade da goiabeira é a realização de cruzamentos entre indivíduos superiores, dando origem a famílias de irmãos-completos. No entanto, como a goiabeira realiza tanto a reprodução cruzada como a autofecundação, sendo aproximadamente 35% de polinização cruzada (Alves et al., 2007), é importante que os cruzamentos sejam realizados com cuidado e, se possível, que haja a confirmação desses.

O êxito desses cruzamentos pode ser verificado por marcadores fenotípicos de fácil visualização. Todavia, na ausência de marcas contrastantes, marcadores de DNA têm sido utilizados obtendo-se relevante sucesso. Diversos são os usos dos marcadores moleculares a fim de auxiliar no melhoramento de plantas, sendo o monitoramento de cruzamentos uma de suas aplicações práticas no melhoramento. Os marcadores são ferramentas que muito têm auxiliado o melhoramento de plantas. Eles permitem avaliar a variabilidade genética da população (Sandhu et al., 2016), a associação de marcadores a genes de

resistência (Uma et al., 2016), a seleção assistida por marcadores (Cebalos et al., 2015; Jiang, 2015) e verificar a confirmação de híbridos (Vij et al., 2016). Nesse sentido, os marcadores moleculares eliminam dúvidas quanto à autofecundação e contaminação de pólen nos cruzamentos. Assim, esse trabalho teve por objetivo monitorar a polinização cruzada entre genótipos promissores via marcadores microssatélites.

### 3.3.2 REVISÃO

#### 3.3.2.1 Marcadores Microssatélites

Os marcadores microssatélites ou SSR (*“Simple Sequence Repeats”* ou Repetições de Sequências Simples) são os marcadores mais utilizados por possuírem alta reprodutividade, distribuição frequente e aleatória, serem codominantes e altamente polimórficos, o que permite uma ampla cobertura do genoma (Oliveira et al., 2006). Eles são encontrados em grande escala nos genomas eucariotos, sendo encontrados tanto em regiões codantes como em regiões não codantes, onde as mutações são silenciosas (Selkoe e Toonen, 2006).

São constituídos por sequências repetidas, de um a seis nucleotídeos, classificadas em quatro classes: repetições perfeitas – sequências que não são interrompidas por uma base que não pertença ao motivo, por exemplo: TATATATATATATA; repetições imperfeitas – sequências que apresentam entre os motivos, pares de bases diferentes do mesmo, por exemplo: TATATATACTATATA; repetições simples - sequências que possuem apenas uma repetição como TGCTGCTGCTGCTGCTGCTGC; e compostos - quando a sequência contém duas sequências repetidas distintas, por exemplo: TATATATAGTGTGTGTGTGT (Weber, 1990).

O alto grau de polimorfismo encontrado nos microssatélites pode ser explicado pelos erros que acontecem nos processos de recombinação, o *crossing-over* desigual, elementos de transposição e o processo de deslizamento da DNA polimerase na replicação ou reparo do DNA (Metais, 2002), sendo este último o

processo mutacional responsável pelo aumento do número de repetições (Anmarkrud et al., 2008).

O polimorfismo referente aos diferentes tamanhos nos fragmentos dos microssatélites ocorre devido aos diferentes números de repetições das sequências simples, pela mudança no elemento repetitivo, ou por substituições, inserções e deleções de nucleotídeos nas regiões que flanqueiam os microssatélites. A observação desses polimorfismos é possível através da utilização de iniciadores com sequências complementares às regiões conservadas que flanqueiam as sequências repetitivas para dar início à PCR. O produto de amplificação da PCR é submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida, agarose de alta resolução ou capilar para a visualização do polimorfismo (Borém e Caixeta, 2008).

### **3.3.2.2 Aplicações dos marcadores moleculares no melhoramento da goiabeira**

O melhoramento da goiabeira convencional é um processo de longo prazo, que se baseia no rearranjo arbitrário de genes entre duas plantas parentais. Os marcadores moleculares são ferramentas que muito têm auxiliado no processo do melhoramento genético. Eles permitem a redução do tempo para o alcance de resultados efetivos, além de fornecer informações genéticas e excluir efeitos ambientais.

A combinação da caracterização morfoagronômica com marcadores moleculares permite caracterizar o germoplasma, estimar a diversidade e relações de parentesco, recomendar genótipos com potencial genético e estimar taxas de cruzamentos (Nimisha et al., 2013). Além disso, o desenvolvimento dos mapas genéticos densos com marcadores de DNA permitiu realizar seleções assistidas por marcadores tanto em características qualitativas como quantitativas.

Na cultura da goiabeira há vários estudos realizados com marcadores moleculares. Estudos de divergência genética baseados em marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) (Dahiya et al., 2002; Prakash et al., 2002; Chen et al., 2007; Gomes Filho et al., 2010; Pessanha et al., 2011), AFLP (Hernandez-Delgado et al., 2007, Sánchez-Teyer et al., 2010, Correa et al., 2011) e marcadores microssatélites (Risterucci et al., 2005; Valdés-Infante et al., 2007).

Noia et al. (2012) analisaram, via microssatélites, a distância genética de acessos de goiabeira coletadas em diferentes altitudes e verificaram ampla variabilidade de acessos silvestres para incorporar nas populações de goiabeira comercial. Os autores também verificaram a transferibilidade dos marcadores microssatélites desenvolvidos para goiabeira em outras espécies da família Myrtaceae. O fato de ser possível utilizar os mesmos microssatélites de goiabeiras em outras espécies relacionadas permite o estudo intra e interespecífico, além de verificar a possibilidade de inserir espécies silvestres nos programas de melhoramento da goiabeira.

Uma estratégia para se reduzir o tempo de obtenção de resultados efetivos em goiabeira é a associação de marcadores moleculares com dados agrônômicos. A construção do mapa de ligação é o primeiro passo para a implementação dessa associação. Na cultura da goiabeira, o primeiro mapa de ligação baseado em marcadores AFLP foi realizado por Valdés-Infante et al. (2003). Os autores encontraram 167 marcas formando 11 grupos de ligação, que representam possivelmente os 11 cromossomos do conjunto haploide da goiabeira. Com auxílio dessa informação foi possível associar características morfoagronômicas (tamanho do fruto, número de semente, teor de sólidos solúveis, acidez e vitamina C com marcadores moleculares, sendo encontrados 21 QTL para essas características em diferentes grupos de ligação (Rodriguez et al. 2007).

Outro mapa de ligação da goiabeira foi elaborado por Padmakar et al., (2015). Foram estudadas duas populações de mapeamento, ou seja, duas populações biparentais. Ambas as populações de mapeamento foram contrastantes para características de qualidade do fruto e qualidade da semente. Ao genotipar a população com um grupo de 30 marcadores RAPD, foram encontradas 214 marcas, sendo 80 específicas de um dos parentais, 14 do outro e 120 encontradas em ambos. O mesmo ocorreu quando utilizaram 55 marcadores microssatélites polimórficos, em que 108 alelos foram específicos para um genitor e 99 alelos do outro genitor.

Com o objetivo de enriquecer o mapa de ligação do trabalho anterior, Padmakar et al., (2016) avaliaram características da qualidade do fruto e qualidade da semente de uma população biparentel originada do cruzamento de Kamsari x *Purple Local*. Para tornar o mapa de ligação mais denso foi utilizado um grupo de 60 RAPD em 94 progênies e seus genitores, sendo encontradas 480 marcas,

dessas 131 foram específicas para *kamsari*, 28 para '*Purple Local*' e 321 pertencentes a ambos genitores. Este trabalho também foi encontrado um QTL de efeito maior para o tamanho do fruto e quatro para firmeza da semente.

Assim, avanços genéticos e ferramentas como seleção assistida por marcadores podem ser amplamente utilizados no melhoramento da goiabeira, bem como análises de parentesco, diversidade genética, e o desenvolvimento de mapas de ligação para diversas características de interesse, como resistência a doenças, sabor e vitamina C. A seleção assistida por marcadores pode oferecer significativa contribuição para o ganho genético em programas de melhoramento em menor intervalo de tempo.

### **3.3.2.3 Uso dos marcadores no monitoramento de cruzamentos**

Em determinados casos é possível verificar a ocorrência da polinização cruzada através de marcadores fenotípicos contrastantes entre os genitores por meio de características qualitativas e de fácil visualização, como cor de flor. Todavia, muitas vezes essas características não estão presentes, sofrem influências ambientais ou segregação genética. Devido a essas limitações, os marcadores moleculares de DNA têm se mostrado eficientes na confirmação de cruzamentos, pois são conclusivos e não sofrem influência ambiental.

Diversos são os trabalhos que utilizam os marcadores moleculares para monitorar os cruzamentos. Vij et al. (2016) utilizaram a técnica do resgate de embrião para originar híbridos interespecíficos entre duas espécies de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* e *Gossypium arboreum*), esses cruzamentos foram confirmados via marcadores microssatélites.

Os policruzamentos são realizados em cana-de-açúcar e consistem no intercruzamento natural de indivíduos selecionados, o que possibilitam diferentes combinações gênicas. Nesses cruzamentos, apenas o genitor feminino é conhecido, assim Xavier et al. (2014), com auxílio dos microssatélites, verificaram o genitor masculino das progênies. Abbas et al. (2015) realizaram cruzamentos interespecíficos entre *Vigna radiata* e *Vigna mungo* e utilizaram marcadores RAPD para confirmar a polinização cruzada dos híbridos. Santos et al. (2012) realizaram vários cruzamentos interespecíficos entre espécies de *Passiflora* a fim de obter progênies híbridas para uso ornamental. Os híbridos foram identificados por

marcadores RAPD, microssatélites e também por caracteres morfológicos. Dessa forma, identificar os parentais correspondentes e confirmar a autofecundação ou polinização cruzada é uma das aplicações práticas dos marcadores moleculares.

### **3.3.3 MATERIAL E MÉTODOS**

Da população de goiabeiras analisadas, onze indivíduos que mais se destacaram em termos de produtividade, número de frutos e massa média de frutos (Pessanha et al., 2011; Campos et al., 2013; Quintal, 2013) foram escolhidos como genitores para dar continuidade ao programa de melhoramento. O cruzamento entre eles foi realizado de forma controlada para evitar autopolinização e contaminação de pólen. Os botões florais dos genitores femininos foram emasculados, antes da antese e logo após foram protegidos com sacos de papel. A antese dos botões protegidos ocorreu cerca de dois a três dias após a emasculação. Nesse momento, as anteras dos genótipos doadores foram coletadas a fim de realizar os cruzamentos, sendo essas cuidadosamente esfregadas no estigma dos genitores receptores com o auxílio de pinça. Após a hibridação artificial, os cruzamentos foram identificados e as flores foram novamente protegidas. Foram realizados oito cruzamentos controlados e semeadas 10 sementes de cada cruzamento. Os cruzamentos foram verificados via marcadores moleculares do tipo microssatélite.

#### **3.3.3.1 Extração de DNA genômico**

A extração do DNA genômico foi realizada de acordo com o protocolo de Doyle e Doyle, (1990), com modificações.

Cerca de cinco folhas jovens de cada genitor e de suas respectivas progênes foram coletadas, acondicionadas em papel alumínio, identificadas e armazenadas em ultrafreezer (-86°C) para que suas propriedades fossem conservadas. As folhas de cada genótipo foram maceradas com nitrogênio líquido e cerca de 50 mg de tecido macerado foi transferido para tubos de 2 ml e imersos em N<sub>2</sub> líquido para evitar ao máximo a oxidação do material.

Nos tubos contendo as amostras, adicionaram-se 700  $\mu\text{l}$  do tampão de extração pré-aquecido contendo: 2 % CTAB, 2,0 mols  $\text{L}^{-1}\text{NaCl}$ , 20  $\text{mmol L}^{-1}$  EDTA, 100  $\text{mmol L}^{-1}$  Tris-HCl (pH 8,0), 2 % PVP e 2,0 % mercaptoetanol, estes dois últimos são necessários para remoção dos compostos fenólicos. O material foi incubado em banho-maria a  $65^{\circ}\text{C}$  por 47 minutos e homogeneizado suavemente a cada 10 minutos.

Após as amostras atingirem temperatura ambiente adicionaram-se 600  $\mu\text{l}$  clorofórmio:álcool isoamílico (24:1), para efetuar a desproteinização. Este material sofreu suaves inversões durante aproximadamente um minuto até ficar turvo. Logo após foi submetido à centrifugação a 13000 rpm por um minuto, e a fase orgânica foi separada. O sobrenadante foi transferido para um tubo de 1,5ml devidamente identificado. A precipitação dos ácidos nucleicos ocorreu pela adição de dois terços do volume (500  $\mu\text{l}$ ) de isopropanol gelado, e incubados por 30 minutos a  $20^{\circ}\text{C}$ . O precipitado foi sedimentado por centrifugação a 14000 rpm por 10 minutos, sendo o sobrenadante descartado e o precipitado lavado duas vezes com 500  $\mu\text{l}$  de etanol a 70% para retirada de sal presente (entre cada lavagem, o material foi centrifugado a 14000 rpm durante 10 minutos). Após o descarte do último sobrenadante, o material foi seco em condições naturais até que o etanol estivesse removido. Em seguida, o material foi ressuscitado em 200  $\mu\text{l}$  de solução TE (Tris-EDTA - 10  $\text{mmol L}^{-1}$  Tris-HCl, 1  $\text{mmol L}^{-1}$  EDTA, pH 8,0) com RNase em uma concentração final de 10  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e incubado em banho-maria a  $37^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos. Logo após, o material foi armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o uso.

A integridade do DNA extraído foi verificada em gel de agarose 1% e quantificada por intermédio do espectrofotômetro NANODROP 2000c. com leitura das absorvâncias no comprimento de onda de 260 nm. Com base neste resultado, todas as amostras foram diluídas para a concentração de trabalho de  $5\text{ng.}\mu\text{L}^{-1}$ .

### 3.3.3.2 Otimização da reação de PCR

Foram utilizados 23 iniciadores desenvolvidos para *Psidium guajava* (Risterucci et al., 2005) a fim de monitorar os cruzamentos (Tabela 1). A reação de PCR foi realizada de acordo com Risterucci et al. (2005), contendo 10 ng de DNA, 0,5  $\mu\text{M}$  dos iniciadores e 0,5 U de *Taq* DNA Polimerase, 0,02mM de dNTP e 1,5 mM de cloreto de magnésio e tampão de PCR (1X), sendo adicionado água

ultrapura para completar o volume final da reação de 13µl por amostra. A temperatura ideal para cada iniciador foi testada, detectando a melhor temperatura de amplificação, variando de 50 a 58°C.

As reações de PCR foram conduzidas em Termociclador (*Veriti 384-well Thermal Cycler Applied Biosystems*) da seguinte forma: 4 min a 94°C para desnaturação inicial, seguindo-se os 35 ciclos, cada um consistiu de 94°C por 1 min, 50 a 58°C por 1 min (de acordo com o iniciador utilizado), 72°C por 3 min, e uma extensão final a 72°C por 7 min. Diversas temperaturas de anelamento foram testadas a fim de obter bandas limpas e de fácil visualização dos alelos.

**Tabela 1.** Identificação dos iniciadores utilizados para confirmação dos cruzamentos, desenvolvidos para *Psidium guajava* (Risterucci et al., 2005)

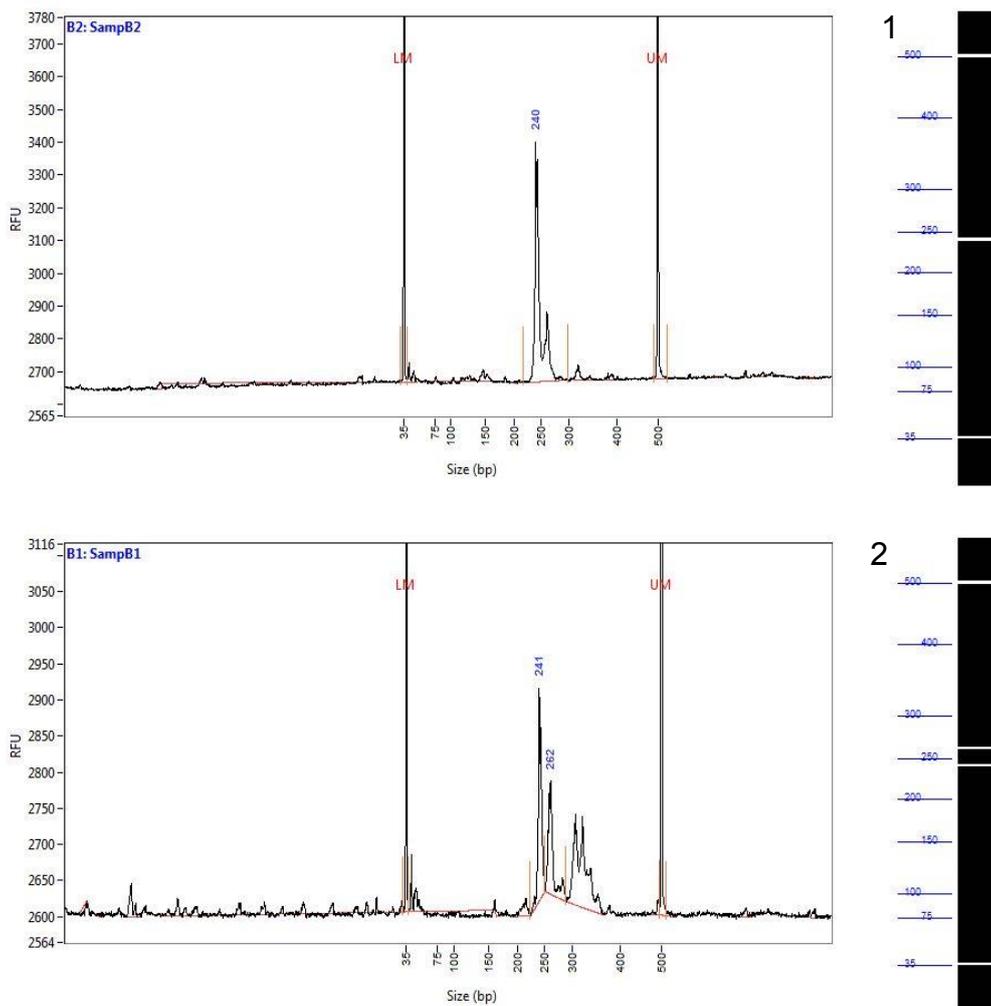
SSR Locus	Sequência dos Iniciadores 5'-3'	Tamanho esperado (pb)
mPgCIR01	F:TAGTGCTTTGGTTGCTT R:GCAGGTGGATATAAGGTC	237
mPgCIR02	F:AGTGAACGACTGAAGACC R:ATTACACATTCAGCCACTT	224
mPgCIR03	F:TTGTGGCTTGATTTCC R:TCGTTTAGAGGACATTTCT	158
mPgCIR04	F:TTCAGGGTCTATGGCTAC R:CAACAAGATACAGCGAACT	148
mPgCIR05	F:GCCTTTGAACCACATC R:TCAATACGAGAGGCAAT	252
mPgCIR07	F:ATGGAGGTAGGTTGATG R:CGTAGTAATCGAAGAAATG	149
mPgCIR08	F:ACTTTTCGGTCTCAACAAG R:AGGCTTCCTACAAAAGTG	214
mPgCIR09	F:GCGTGTTCGTATTGTTTC R:ATTTTCTTCTGCCTTGTC	173
mPgCIR10	F:GTTGGCTCTTATTTTGGT R:GCCCCATATCTAGGAAG	261
mPgCIR11	F:TGAAAGACAACAAACGAG R:TTACACCCACCTAAATAAGA	298
mPgCIR13	F:CCTTTTTCCCGACCATTACA R:TCGCACTGAGATTTTGTGCT	245
mPgCIR14	F:TAAACACAACAAGGGTCA R:CAGTTTTTCATATCGTCCTC	185
mPgCIR15	F:TCTAATCCCCTGAGTTTC R:CCGATCATCTCTTTCTTT	147
mPgCIR16	F:AATACCAGCAACACCAA R:CATCCGTCTCTAAACCTC	292
mPgCIR17	F:CCTTTTCGTATATTCACTT R:CATTGGATGGTTGACAT	231
mPgCIR18	F:TAAGCTGCATGTGTGC R:ATGGCTTTGGATGAAA	195
mPgCIR19	F:AAAATCCTGAAGACGAAC R:TATCAGAGGCTTGCATTA	274
mPgCIR20	F:TATACCACACGCTGAAAC R:TTCCCATAAACATCTCT	266
mPgCIR21	F:TGCCCTTCTAAGTATAACAG R:AGCTACAAACCTTCCTAAA	154
mPgCIR22	F:CATAAGGACATTTGAGGAA R:AATAAGAAAGCGAGCAGA	235
mPgCIR23	F:GTCTATACCTAATGCTCTGG R:CCCAGGAAAATCTATCAC	185
mPgCIR25	F:GACAATCCAATCTCACTTT R:TGTGTCAAGCATACCTTC	124
mPgCIR26	F:CTACCAAGGAGATAGCAAG R:GAAATGGAGACTTTGGAG	185

### 3.3.3.3. Eletroforese capilar e Análise de locos SSR

Os fragmentos amplificados foram, então, separados em eletroforese capilar. Para isso foi necessária a diluição dos produtos da PCR que consistiu na relação de 4 µl de amostra para 20 µl de Buffer E do kit DNF 900, sendo, então, submetidos a sistema de eletroforese capilar (*Fragment Analyzer* - AATI), no qual fragmentos amplificados de 35 a 500pb são separados com uma resolução de aproximadamente 2bp. Cada corrida teve duração de 2h e 20 min sob uma voltagem de 8 kw.

As análises dos fragmentos e a estimativa do tamanho de alelos em pares de base foram realizadas com o uso do *software ProSize 2.0* (Figura 1) para filtragem de picos, interpretação dos dados e identificação do genótipo de cada indivíduo. A eletroforese capilar elimina os problemas de padronização subjetiva por uso de critérios pessoais. Somente alelos com diferença de pelo menos 5 pb foram considerados distintos.

Foram analisadas oito progênies com 10 indivíduos cada e seus respectivos genitores, totalizando 91 indivíduos. Apenas os marcadores polimórficos para ambos os genitores de cada cruzamento foram selecionados para o monitoramento dos cruzamentos, visto que a progênie precisa conter um alelo materno e outro paterno. Para confirmação dos cruzamentos foi observado se o indivíduo possuía pelo menos um alelo materno e um paterno. Se o indivíduo apresentasse alelos encontrados apenas em um genitor confirmava a autofecundação. Caso nenhum dos alelos dos genitores fosse encontrado na progênie, indicava que houve contaminação por pólen estranho ou mistura de sementes.



**Figura 1** – Exemplos das análises com marcadores SSR, utilizando o *software Prosize*. Loco mPgCIR11. A imagem 1 representa um exemplo de indivíduo homocigoto e a figura 2 indivíduo heterocigoto.

### 3.3.4 RESULTADO E DISCUSSÃO

Dos 23 iniciadores testados apenas oito (tabela 2) apresentaram amplificação satisfatória e uma fácil identificação dos alelos, no entanto, desses, somente quatro foram polimórficos para os genitores. Os demais não amplificaram ou geraram bandas inespecíficas, o que dificultou a identificação de alelos. Os iniciadores mPgCIR11, mPgCIR20, mPgCIR22 e mPgCIR23 foram utilizados para a confirmação dos cruzamentos das progênies por serem polimórficos nos pares de genitores. Das oito famílias testadas, cinco utilizaram os locos mPgCIR22 e mPgCIR11 e quatro utilizaram o loco mPgCIR20, e apenas uma progênie utilizou o

mPgCIR23 para a confirmação de suas progênes. Foram encontrados no máximo dois alelos por indivíduo, sendo observados indivíduos homocigoto e heterocigoto, resultado esse que confirma a condição diploide da cultura ( $2n=22$ ) (Sittther et al., 2014).

**Tabela 2.** Código de loco, temperatura de anelamento e número de alelos encontrados.

Loco	TA (°C)	Número de alelos
mPgCIR2	52	2
mPgCIR11	58	2
mPgCIR12	50	1
mPgCIR16	51	1
mPgCIR18	52	2
mPgCIR20	52	2
mPgCIR22	56	3
mPgCIR23	58	2

O número de indivíduos avaliados e a população avaliada influenciam no grau de polimorfismos encontrado nos locos. O pequeno número de alelos e o baixo polimorfismo eram esperados, pois foram analisadas apenas oito progênes de irmãos completos, com 10 indivíduos cada. Além disso, algumas progênes possuem *pedigree* relacionado, compartilhando os mesmos parentais.

Valdez-Infante et al. (2007) caracterizaram sete marcadores microssatélites desenvolvidos para *Psidium guajava* por Risterucci et al., (2005). Ao analisarem 34 indivíduos de goiabeira do banco de germoplasma verificaram que, do total de amplificações, 61% apresentaram apenas um alelo, o que possivelmente corresponde à autofecundação, e dois alelos foram encontrados em 37% das amplificações, indicando que houve polinização aberta, concordando com a porcentagem (35%) de polinização cruzada já comprovada para essa cultura (Soubihe Sobrinho e Gurgel, 1962; Alves et al., 2007). Esse trabalho corrobora com o número de alelos encontrados para a população em estudo, demonstrando ser característica da cultura estudada.

Os genótipos parentais escolhidos para dar origem à próxima geração de famílias de irmãos completos apresentaram bom desempenho agrônômico (tabela 3), visto que possuem alta produtividade, produzindo grande número de frutos por planta e com massa média do fruto superior a cultivar Paluma que produz em média

180 frutos por planta com massa de 144 gramas (Serrano et al., 2007). O cruzamento foi realizado de forma controlada, em que a planta receptora de pólen foi emasculada a fim de evitar autofecundação.

**Tabela 3:** Indivíduos escolhidos como genitores da próxima geração de melhoramento

Genitores	NF	MF	PT
10.5 I	116	135	15,66
12.11II	255	160	40,80
4.5 I	111	130	14,40
12.11 I	151	202	30,35
12.4 I	129	170	21,96
8.4 II	132	221	29,17
2.6 I	65	143	9,30
8.4 I	146	113	16,45
3.11 I	118	137	16,17
7.9 I	35	232	8,12

NF: número de frutos por planta; MF: massa média do fruto (gramas); PT: produção total (Kg)

A combinação dos cruzamentos (tabela 4) foi escolhida a fim de incrementar as características favoráveis dos genitores, aumentando o número de alelos favoráveis na nova população. Um exemplo é a combinação 12.11.II x 8.4 II, em que o indivíduo 12.11.I produz um expressivo número de frutos por planta (255) e foi cruzado com o 8.4 II que gerou frutos com uma massa média de 221 gramas. Assim, a principal intenção dos cruzamentos foi originar uma nova população mais produtiva, com potencial para competir com as cultivares que já são amplamente plantadas nos pomares brasileiros.

Inicialmente foi realizada triagem a fim de encontrar marcas polimórficas para os genitores. Com essa triagem foi possível observar que a maioria dos indivíduos compartilha dos mesmos alelos, ora homocigotos ora heterocigotos. Resultado esse já esperado pelo fato de os genitores serem relacionados, provenientes da mesma população. Resultados semelhantes foram encontrados na caracterização molecular de acessos de *Feijoa sellowiana* e acessos de *Psidium guajava* (Dettori et al., 2000; Valdés-Infante et al., 2007).

O cruzamento da progênie 11 foi confirmado (figura 2), tendo em vista que o genitor masculino foi heterocigoto para esse loco e o genitor feminino homocigoto, e todos os descendentes possuíam um alelo materno e outro paterno. Os cruzamentos das progênies 3, 5, 8, 9 e 11 também se confirmaram. Constatou-se

que a progênie 4 e 6 foram originadas de autofecundação, sendo que todos os alelos das progênies foram encontrados apenas no genitor feminino.

**Tabela 4.** Combinação dos prováveis genitores feminino (♀) e masculino (♂) e a progênie correspondente.

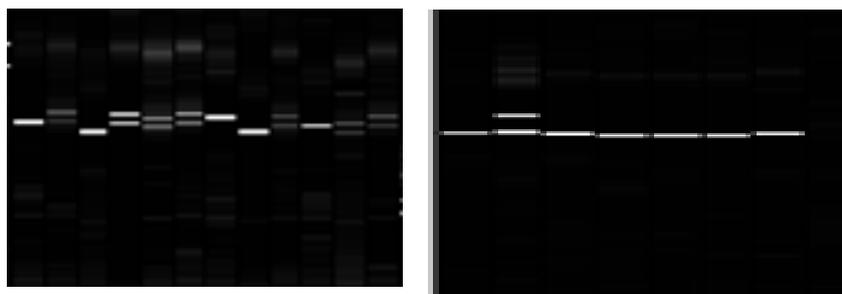
♀	♂	So
10.5 I	12.4 I	P2
12.11II	8.4 II	P3
4.5 I	2.6 I	P4
12.11 I	8.4 I	P5
12.4 I	12.11 I	P6
12.11 II	3.11 I	P8
12.11 I	7.9 I	P9
12.4 I	12.11 II	P11

Os marcadores microssatélites foram ótimas ferramentas para confirmar a fecundação cruzada entre os indivíduos de goiabeira. Santos et al. (2011) demonstraram o sucesso dos marcadores microssatélites para a confirmação de híbridos interespecíficos de *Passiflora*. De acordo com Faleiro (2003), o uso de pelo menos um fragmento ou alelo informativo já é suficiente para confirmar ou não a fecundação cruzada.

Diversos estudos têm utilizado os marcadores moleculares para realizar a confirmação de cruzamentos em fruteiras. Junqueira et al. (2008) utilizaram RAPD a fim de verificar a compatibilidade interespecífica entre espécies de *Passiflora* a fim de introduzir espécies silvestres e resistentes a diversas doenças que acometem o maracujazeiro. Os autores verificaram eficiência dos marcadores moleculares para verificar a ocorrência ou não da fecundação cruzada no gênero *Passiflora*. A confirmação de híbridos entre cacau e cupuaçu (*Theobromacacao* e *T. grandiflorum*), duas fruteiras de grande importância econômica, foi realizada via marcadores RAPD (Faleiro et al., 2003). Estudos reprodutivos em espécies de *Prunos* utilizaram marcadores microssatélites para estimar a probabilidade da exclusão da paternidade (Schueler et al. 2003).

Vale ressaltar que dos 96 indivíduos analisados, 54 foram heterozigotos para os *locus* analisados, o que já era esperado na cultura da goiabeira. A grande

proporção de indivíduos heterozigotos observados deve-se ao fato de a goiabeira reproduzir-se, preferencialmente, por polinização aberta, tendo a abelha como principal polinizador (Alves et al., 2007). Dessa forma, ocorre a segregação gamética, em que cada semente possui sua própria constituição genética, sendo possível selecionar os indivíduos superiores dentro da mesma progênie.



**Figura 2.** Representa o gel virtual da eletroforese capilar gerado pelo programa *ProSize 2.0*. Nas imagens o primeiro indivíduo é o genitor materno e o segundo o genitor paterno, os demais os descendentes. A imagem 1 representa a confirmação do cruzamento da progênie 11 e a imagem 2 mostra que a progênie 6 é oriunda de autofecundação.

A confirmação dos cruzamentos permite inferir que a nova população de melhoramento será promissora, produzindo número significativo de frutos grandes e pesados, uma vez que os genitores apresentam produtividade considerável. Esses frutos podem ser destinados tanto para a indústria de processamento como para o consumo da fruta fresca, pois suas características atendem a ambos os mercados.

### 3.3.5 CONCLUSÃO

Os marcadores microssatélites foram eficientes na confirmação dos cruzamentos, identificando expressivo número de indivíduos heterozigotos e com baixo polimorfismo na população estudada.

Essas características são decorrentes da estrutura da população estudada, que apresenta altas taxas de polinização aberta e pelo fato de a análise ser realizada com indivíduos aparentados.

Das famílias analisadas, apenas duas foram provenientes de autofecundação, sendo que nas demais, os cruzamentos cruzados foram confirmados.

Dessa forma, a nova população de melhoramento tende a agrupar características favoráveis de ambos os genitores, agregando alto potencial produtivo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, M. M., Javed, M. A., Ishfaq, M., & Alvi, M. A. (2013) Grafting Techniques in Guava (*Psidium guajava*). *Journal of Agricultural Research*, 51(4).
- Abreu, J.R.D., Santos, C.D.D., Abreu, C.M.P.D., Castro, E.M.D. (2012) Histochemistry and morphoanatomy study on guava fruit during ripening. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 32(1), 179-186.
- Ali, D. O. M., Ahmed, A. R., & Babikir, E. B. (2014) Suitability of local sudanese suava (*Psidium guajava* L.) cultivars for concentrates production. *Journal of Agri-Food and Applied Sciences*, 2(8), 225-229.
- Almeida, E. J.; Wickert, E.; Santos, J. M.; Martins, A. B. G. (2012) Análise da variabilidade genética de acessos de *Psidium* spp. (Myrtaceae) avaliados quanto à reação a *Meloidogyne enterolobii*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34(2), 532-539.
- Almeida, L. M., Viana, A. P., Amaral Júnior, A. T. D., Júnior, C., & Barros, J. (2014) Breeding full-sib families of sugar cane using selection index. *Ciência Rural*, 44(4), 605-611.
- Alves, J.E., Freitas, B. M. (2008a) Comportamento de pastejo e eficiência de polinização de cinco espécies de abelha sem

- flores de goiabeira (*Psidium guajava*L.). *Revista Ciência Agronômica*, 37(2), 216-220.
- Alves, J.E., Freitas, B.M. (2007) Requerimentos de polinização da goiabeira. *Ciência Rural*, 37: 1281-1286.
- Alves, R. M.; Resende, M. D. V. (2008b) Avaliação genética de indivíduos e progênies de cupuaçuzeiro no estado do Pará e estimativas de parâmetros genéticos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 30, n. 6, p. 696-701.
- Anmarkrud, J. A., Kleven, O., Bachmann, L. & Lifjeld, J. T. (2008) Microsatellite evolution: Mutations, sequence variation, and homoplasy in the hypervariable avian microsatellite locus HrU10. *Bmc Evolutionary Biology*. v.8, p.1471-2148.
- Araújo, M. J. D., Dias, D. D. C., Scarpinati, E. A., & Paula, R. C. D. (2015) Number of replicates, of plants per plot and of evaluations for eucalyptus clonal tests. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 50(10), 923-931.
- Atroch, A. L., Resende, M., Nascimento Filho, F. J. (2004) Seleção clonal em guaranazeiro via metodologia de modelos lineares mistos (REML/BLUP). *Revista de Ciências Agrárias*, (41), 193-201.
- Azzolini, M.; Jacomino, A. P.; Bron, I. U. (2004) Índices para avaliar qualidade pós-colheita de goiabas em diferentes estádios de maturação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39(2), 139-145.
- Berilli, A.P., Cândido G., Pereira, M.G., Trindade, R. S. , Costa, F.R., & Cunha, K. S. (2013) Response to the selection in the 11<sup>th</sup> cycle of reciprocal recurrent selection among full-sib families of maize. *Acta Scientiarum Agronomy*, 35, 435-441.
- Bernardo, R. Breeding for quantitative traits in plants. Stemma Press: *Woodbury*, 2010. 400p.
- Bhering, L. L., Laviola, B. G., Salgado, C. C., Sanchez, C. F. B., Rosado, T. B., & Alves, A. A. (2012) Genetic gains in physic nut using selection indexes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(3), 402-408.
- Borém, A., Caixeta, E. T. *Marcadores Moleculares*. 2a. ed. v. 1. 532 p. 2008.

- Bruna, E.D., Moreto, A.L. and Dalbó, M.A., (2012) Uso do coeficiente de repetibilidade na seleção de clones de pessegueiro para o Litoral Sul de Santa Catarina. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34, pp.206-215.
- Bünger, M. D. O., Stehmann, J. R., & Oliveira-Filho, A. T. (2014). Myrtaceae throughout the Espinhaço Mountain Range of central eastern Brazil: floristic relationships and geoclimatic controls. *Acta Botanica Brasilica*, 28(1), 109-119.
- Cabral, P. D. S., Soares, T. C. B., Lima, A. B. P., Soares, Y. J. B., & Silva, J. A. (2011) Path analysis of grain yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and its components. *Revista Ciência Agronômica*, 42(1), 132-138.
- Campos, B.M., Viana, A.P., Quintal, S.S.R., Gonçalves, L. S. A., & Pessanha, P.G.D.O. (2013) Quantification of the genetic divergence among guava accessions using Ward-MLM strategy. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35(2), 571-578.
- Carbonell, S. A. M., Chiorato, A. F., RESENDE, M. D., DIAS, L. D. S., Beraldo, A. L. A., & Perina, E. F. (2007) Estabilidade de cultivares e linhagens de feijoeiro em diferentes ambientes no estado de São Paulo. *Bragantia*, 66(2), 193-201.
- Cardoso, E.A., Costa, J. T. A., Soares, I. S., Silva, R. M., & Maracajá, P. B. (2011) Produtividade da goiabeira 'Paluma' em função da adubação mineral. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 6(2), 149-153.
- Carvalho, L. P., Farias, F. J. C., de Lellis Morello, C., & Teodoro, P. E. (2016) Uso da metodologia REML/BLUP para seleção de genótipos de algodoeiro com maior adaptabilidade e estabilidade produtiva. *Bragantia*, 75(3), 314-321.
- Cavalcante, M., De Andrade Lira, M., Dos Santos, M. V. F., Pita, E. B. A. F., Ferreira, R. L. C., Tabosa, J. N. (2012) Coefficient of repeatability and genetic parameters in elephant grass. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 47(4), 569-575.
- Ceballos, H., Kawuki, R. S., Gracen, V. E., Yencho, G. C., & Hershey, C. H. (2015) Conventional breeding, marker-assisted selection, genomic selection and inbreeding in clonally propagated crops: a case study for cassava. *Theoretical and Applied Genetics*, 128(9), 1647-1667.

- Coser, S. M., F. M. F. S., Ferreira, A., Saraiva, S. H. (2014) Diversidade genética de seleções de goiabeiras cortibel. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal*, 36(2), 391-399.
- Costa, I.R., Forni-Martins, E.R. (2006) Chromosome studies in Brazilian species of *Campomanesia* Ruiz e Pávon and *Psidium* L. (Myrtaceae Juss.). *Caryologia* 59: 7-13.
- Costa, I.R., Forni - Martins E.R. (2007) Karyotype analysis in South America species of Myrtaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 155 (4), 571-580.
- Costa, M. M.; Mauro, A. O.; Unêda-Trevisoli, S. H.; Arriel, N. H. C.; Bárbaro, I. M.; Muniz, F. R. S. (2004) Ganho genético por diferentes critérios de seleção em populações segregantes de soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39(11), 1095-1102.
- Cruz C.D. (2013) GENES - software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum Agronomy*. 35(3):271-276.
- Cruz, C. D., Regazzi, A. J., Carneiro, P. C. S. (2012). *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: UFV, Brazil.
- Degenhardt, J.; Ducroquet, J.P.; Reis, M.S.; Guerra, M.P.; Dari, R.O.(2002) Efeito de anos e determinação do coeficiente de repetibilidade de características de frutos de goiabeira-serrana. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.37, p.1285- 1293.
- Dettori, M. T and Palombi, M. A. (2000) Identification of Feijoa sellowiana Berg accessions by RAPD markers. *Scientia Horticulturae*, vol. 86, p. 279-290
- Dhara, P., Patel, N. L., Tanveer, A., Apeksha, P., & Kumar, V. (2017) Effect of Pre-Cooling Packaging Material on Chemical and Sensory Quality of Guava Fruits [*Psidium Guajava* (Linn.)] Cv Allahabad Safeda. *Environment & Ecology*, 35(1), 64-69.
- Doyle, J.J, Doyle, J.L. (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. v.12, n.1, p.13-15.

- Éder-Silva, E., Felix, L. P., Bruno, R. D. L. A. (2007) Citogenética de algumas espécies frutíferas nativas do nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 29(1), 110-114.
- Faleiro FG, Pires JL, Lopes UV (2003) Uso de marcadores moleculares RAPD e microsátélites visando a confirmação da fecundação cruzada entre *Theobroma cacao* e *Theobroma grandiflorum*. *Agrotropica* 15:41–46
- Faostat, F., 2013 Agriculture organization of the United Nations (2011). *FAO, Retrieved from*. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/faostatgateway/go/to/download/Q/QC/S>. Acesso, 2016
- Farias Neto, J.T.; Resende, M.D.V. (2001) Aplicação da metodologia de modelos mistos (REML/BLUP) na estimação de componentes de variância e predição de valores genéticos em pupunheira (*Bactris gasipaes*) *Rev. Bras.Frusic.*, Jaboticabal – SP, v. 23, n. 2, p. 320-324
- Ferreira, F. M.; Neves, L.G.; Bruckner, C.H.; Viana, A. P.; Cruz, C.D.; Barelli, M.A.A. (2010) Formação de supercaracteres para seleção de famílias de maracujazeiro amarelo. *Acta Scientiarum. Agronomy* 32.2,p. 247-254.
- Ferreira, R. T., Viana, A. P., Barroso, D. G., Resende, M. D. V. D., & Amaral Júnior, A. T. D. (2012) *Toona ciliata* genotype selection with the use of individual BLUP with repeated measures. *Scientia Agricola*, 69(3), 210-216.
- Figueiredo, A. G., Von Pinho, R. G., Silva, H. D., & Balestre, M. (2015) Application of mixed models for evaluating stability and adaptability of maize using unbalanced data. *Euphytica*, 202(3), 393-409.
- Freitas, J. P. X., De Oliveira, E. J., DE Jesus, O. N., Da Cruz Neto, A. J., & Santos, L. R. (2012) Development of a base population for recurrent selection in yellow passion fruit using selection indexes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 47, 393-401.
- FreitaS, J. P. X.; Oliveira, E. J.; Jesus, O. N.; Cruz Neto, A. J.; Dos Santos, L. R. (2010) Formação de população base para seleção recorrente em maracujazeiro-amarelo com uso de índices de seleção. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 47, 393-401.

- Gomes Filho, A.; Oliveira, J. G. D.; Viana, A. P.; Siqueira, A. P. D. O.; Oliviera, M.; Pereira, M. G. (2010) Marcadores moleculares RAPD e descritores morfológicos na avaliação da diversidade genética de goiabeiras (*Psidium guajava* L.). *Acta Scientiarum Agronomy, Maringá*, 32(4),
- Gomes, V.M., R.M. Souza, V. Mussi-Dias, S.F. Silveira & C. Dolinski. 2010 Guava decline: a complex disease involving *Meloidogyne mayaguensis* and *Fusarium solani*. *Journal of Phytopathology*, 158: 1-6.
- Gonçalves, G. M., Viana, A. P., Bezerra Neto, F. V., Pereira, M. G., Pereira, T. N. S. (2007) Seleção e herdabilidade na predição de ganhos genéticos em maracujá-amarelo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(2), 193-198.
- Govaerts, R., Sobral, M., Ashton, P., Barrie, F., Holst, B. K., Landrum, L. L., Matsumoto, K., Mazine, F. F., Lughadha, E. N., Proença, C., Soaressilva, L. H., Wilson, P G, Lucas, E. (2012) *World Check-List of Myrtaceae*. Facilitado pelo Royal Botanic Gardens, Kew. Publicado na internet; <http://apps.kew.org/wcsp/>. Acessado em 16/08/2016.
- Grattapaglia, D., Vaillancourt, R. E., Shepherd, M., Thumma, B. R., Foley, W., Külheim, C., Myburg, A. A. (2012) Progress in Myrtaceae genetics and genomics: Eucalyptus as the pivotal genus. *Tree Genetics & Genomes*, 8(3), 463-508.
- Hardner, C. M., Healey, A. L., Downes, G., Herberling, M., Gore, P. L. (2016) Improving prediction accuracy and selection of open-pollinated seed-lots in *Eucalyptus dunnii* Maiden using a multivariate mixed model approach. *Annals of Forest Science*, 73(4), 1035-1046.
- Hazel, L.N. The genetic basis for constructing selection indexes. *Genetics*, v.28, p.476- 490, 1943.
- Hernandes, A., Parent, S. É., Natale, W., Parent, L. É. (2012) Balancing guava nutrition with liming and fertilization. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34(4), 1224-1234

- Hu, X. (2015) A comprehensive comparison between ANOVA and BLUP to valuate location-specific genotype effects for rape cultivar trials with random locations. *Field Crops Research*, 179, 144-149.
- Hung, T. D., Brawner, J. T., Meder, R., Lee, D. J., Southerton, S., Think, H. H., & Dieters, M. J. (2015) Estimates of genetic parameters for growth and wood properties in *Eucalyptus pellita* F. Muell. to support tree breeding in Vietnam. *Annals of Forest Science*, 72(2), 205-217.
- IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro, (2016) Available at:<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?t=2&z=t&o=11&u1=1&u2=1&3=1&u4=1&u5=1&u6=1>. Acesso em: 10/12/ 2016.
- IBRAF (São Paulo) (2016) Instituto Brasileiro de Frutas. Informações institucionais, técnicas, notícias, projetos, publicações e serviços. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/>; Acesso em: 08/08/2016
- Ilker, E., Tonk, F. A., Tosun, M., & Tatar, O. (2013) Effects of direct selection process for plant height on some yield components in common wheat (*Triticum aestivum*) genotypes. *International Journal of Agriculture & Biology*, 15(4), 795-797.
- Jiang, G. L. (2015) Molecular Marker-Assisted Breeding: A Plant Breeder's Review. In *Advances in Plant Breeding Strategies: Breeding, Biotechnology and Molecular Tools* (pp. 431-472). Springer International Publishing.
- Junqueira KP, Faleiro FG, Junqueira NTV, Bellon G, Ramos JD, Braga MF, Souza LS (2008) Confirmação de híbridos interespecíficos artificiais no gênero *Passiflora* por meio de marcadores RAPD. *Rev Bras Frutic* 30:191–196.
- Kanwal, N., Randhawa, M. A., & Iqbal, Z. (2016) A Review of Production, Losses and Processing Technologies of Guava. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences* 4(02).
- Kareem, A., Jaskani, M. J., Fatima, B., & Sadia, B. (2013) Clonal multiplication of guava through softwood cuttings under mist conditions. *Pak. J. Agric. Sci*, 50, 23-27.

- Khan, J.N., Jain, A.K., Sharda, R., Singh, N., Gill, P.S. and Kaur, S., (2013) Growth, yield and nutrient uptake of guava (*Psidium Guavaja L.*) affected by soil matric potential, fertigation and mulching under drip irrigation. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 15(3), pp.17-28.
- Krause, W., Souza, R. D., Neves, L. G., Carvalho, M. D. S., Viana, A. P., & Faleiro, F. G. (2012) Selection gain in the intrapopulation genetic breeding of yellow passion fruit. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47, 51-57.
- Landrum, L. R., Kawasaki, M. L. (1997) The Genera of Myrtaceae in Brazil: An Illustrated Synoptic Treatment and Identification Keys. *Brittonia*, 49(4):508-536.
- Laviola, B.G., e Oliveira, A.M.C., Bhering, L.L., Alves, A.A., Rocha, R.B., Gomes, B.E.L. and Cruz, C.D., (2013) Estimates of repeatability coefficients and selection gain in *Jatropha* indicate that higher cumulative genetic gains can be obtained by relaxing the degree of certainty in predicting the best families. *Industry Crops and Products*, 51, pp.70-76.
- Lima, M.A.C.; Assis, J.S.; Gonzaga Neto, L. (2002) Caracterização dos frutos de goiabeira e seleção de cultivares na Região do Submédio São Francisco. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24(1), 273-276.
- Lira Júnior, José Severino de, Bezerra, João Emmanoel Fernandes, Moura, Roberto José Mello de, & Santos, Venézio Felipe dos. (2014) Repetibilidade da produção, número e peso de fruto em ciriguela (*Spondias purpurea L.*). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(1), 214-220.
- Maêda, J.M.; Pires, I.E.; Borges, R. DE C.G.; Cruz, C.D. (2001) Critérios de seleção uni e multivariados no melhoramento genético da *Virola surinamensis* Warb. *Floresta e Ambiente*, v.8, p.61-69.
- Maia, M. C. C., de Resende, M. D. V., de Paiva, J. R., Cavalcanti, J. J. V., & de Moura Barros, L. (2009) Simultaneous selection for genotypic production, adaptability, and stability in cashew clones by mixed models. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 39(1), 43.

- Maia, M. C. C.; Resende, M. D. V.; Oliveira, L. C.; Vasconcelos, L. F. L.; Lima Neto, J. F. P. (2014) Análise genética em genótipos de manga rosa via REML/BLUP. *Revista Agrotecnologia*, 5(1), 1-16.
- Mani, A., Mishra, R., & Thomas, G. (2011) Elucidation of diversity among *Psidium* species using morphological and SPAR methods. *Journal of Phytology*, 3(8).
- Marçal, T.S., Guilhen, J. H. S., Oliveira, W. B.S., Ferreira, M. F.S., Resende, M. D. V., & Ferreira, A. (2016) Repeatability of biometric characteristics of Juçara palm fruit = Repetibilidade de características biométricas de frutos de palmito Juçara. *Bioscience Journal*, 32(4).
- Martins, I. S.; Cruz, C. D.; Regazzi, A. J.; Pires, I. E. (2003) Eficiência da seleção univariada direta e indireta e de índices de seleção em *Eucalyptus grandis*. *Revista Árvore*, 27(3), 327-333.
- Mehmood, A., Jaskani, M.J., Khan, I.A., Ahmad, S., Ahmad, R., Luo, S. and Ahmad, N.M., (2014) Genetic diversity of Pakistani guava (*Psidium guajava* L.) germplasm and its implications for conservation and breeding. *Scientia Horticulturae*, 172, pp.221-232.
- Menezes, C. C., Borges, S. V., Ferrua, F. Q., Vilela, C. P., & Carneiro, J. D. D. S. (2011) Influence of packaging and potassium sorbate on the physical, physicochemical and microbiological alterations of guava preserves. *Food Science and Technology (Campinas)*, 31(3), 674-680.
- Miranda, G. B.; Souza, R. D.; Gomes, V. M., Ferreira, T. D. F., Almeida, A. M. (2012) Avaliação de acessos de *Psidium* spp. quanto à resistência a *Meloidogyne enterolobii*. *Bragantia*, 71(1), 52-58.
- Nascimento Filho, F. J.; Atroch, A. L.; Cruz, C. D.; Carneiro, P. C. S. (2009) Repetibilidade da produção de sementes em clones de guaraná. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 44, n. 6, p. 605-612.
- Natale, W., Coutinho, E. L. M., Pereira, F. M., JunioR, M. M., Martins, M. C. (2009) Efeito da adubação n, pek no teor de sólidos solúveis totais de frutos de goiabeira (*Psidium guajava* L.). *Alimentos e Nutrição*.

- Negreiros, J.R. da S.; Andrade Neto, R. de C.; Miquelonl, D.P.; Lessa, L.S. (2014) Estimativa de repetibilidade para caracteres de qualidade de frutos de laranja-doce. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.49, p.40-48.
- Neves, L. G., Bruckner, C. H., Cruz, C. D., Viana, A. P., & Barelli, M. A. A. (2011) Gain prediction with different selection index for yellow passion fruit characterization. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33, 1322-1330.
- Nimisha, S., Kherwar, D., Ajay, K. M., Singh, B., & Usha, K. (2013) Molecular breeding to improve guava (*Psidium guajava* L.): current status and future prospective. *Scientia Horticulturae*, 164, 578-588.
- Oliveira, D. D. S.; Aquino, P. P.; Ribeiro, S. M. R.; Proença, R. P. D. C.; Pinheiro-Sant'ana, H. M. (2011) Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. *Acta Scientiarum. Health Science*, 33(1): 89-98.
- Oliveira, E. J., Pádua, J. G., Zucchi, M. I., Vencovsky, R., Lúcia, M., Vieira, C. (2006) Origin, evolution and genome distribution of microsatellites, *Genetics and Molecular Biology*, v.29, p. 294–307.
- Oliveira, E. J., Santana, F. A., Oliveira, L. A., Santos, V. S. (2014) Genetic parameters and prediction of genotypic values for root quality traits in cassava using REML/BLUP. *Genet Mol Res*, 13, 6683-6700.
- Oliveira, E. J.; DA Silva Santos, V.; DE lima, D. S.; Machado, M. D.; Lucena, R. S., Motta, T. B. N.; Castellen, M.S. (2008) Seleção em progênies de maracujazeiro-amarelo com base em índices multivariados. *Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília*, 43(11), 1543-1549.
- Oliveira, I. P., Oliveira, L. C., de Moura, C. S. F. T., de Lima Júnior, A. F., & da Rosa, S. R. A. (2012) Cultivo da goiabeira: do plantio ao manejo. *Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos*, 5(4).
- Padmakar, B., Kanupriya, C., Latha, P. M., Vasugi, C., Dinesh, M. R., Sailaja, D., & Aswath, C. (2016) Enrichment of Genetic Linkage Maps and Mapping QTLs Specific to Seed Strength-Hardness/Softness-In Guava (*Psidium guajava* L.). *Journal of Horticultural Science*, 11(1), 13-20.

- Padmakar, B.; Sailaja, D.; Aswath, C. (2015) Molecular exploration of guava (*Psidium guajava* L.) genome using SSR and RAPD markers: a step towards establishing linkage map. *Journal of Horticultural Science*, v. 10, n. 2, p. 130-135.
- Patterson, H. D.; Thompson, R. (1971) Recovery of inter-block information when block sizes are unequal. *Biometrika*, Oxford , v. 58 n. 3, p. 545-54.
- Paula, R.C.; Pires, I.E.; Borges, R.C.G.; Cruz, C.D. (2002) Predição de ganhos genéticos em melhoramento florestal. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.37, p.159- 165.
- Pereira, F.M., Nachtigal, J.C. (2003) Melhoramento da goiabeira. In: Rozane, D.E.Couto, F.A.d'A. *Cultura da goiabeira: tecnologia e mercado*. Viçosa: UFV, p.53-78.
- Pereira, F. M.; Carvalho, C. A.; Nachtigal, J. C. (2003) Século XXI: nova cultivar de goiabeira de dupla finalidade. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25(3), 498-500.
- Pereira, T.B., Carvalho, J.P.,F. Botelho, C.E., Resende, M.D.V., Rezende, J. C., Mendes, A.N. G, (2013) Eficiência da seleção de progênies de café F4 pela metodologia de modelos mistos (REML/BLUP). *Bragantia*, 72(3).
- Pessanha, P. G. D. O., Viana, A. P., Amaral Júnior, A. T. D., Souza, R. M. D., Teixeira, M. C., & Pereira, M. G. (2011) Assessment of genetic diversity in access to *Psidium* spp. via RAPD markers. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33(1), 129-136.
- Pinheiro, L. C. D. M., God, P. I. V. G., Faria, V. R., Oliveira, A. G., Hasui, A. A., Pinto, E. H. G.,... & Moreira, M. A. (2013) Relationship in the selection for productivity and oil and protein contents in soybean using mixed models. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(9), 1246-1253.
- Pommer, C.V., Murakami, K.R.N. (2009) Breeding Guava (*Psidium guajava*L.). In: Jain, S.M., Priyadarshan, P.M., *Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species*. v.1. New York: Springer, p.83-120.

- Purbajanti, E. D., Setiadi, A., & Roessali, W. (2016) Variability and nutritive compounds of guava (*Psidium guajava* L.). *Indian Journal of Agricultural Research*, 50(3), 273-277.
- Quintal, S.S.R. (2013) *Melhoramento da goiabeira p. guajava via metodologia de modelos mistos*. Tese de doutorado em Produção Vegetal, UENF, 185.
- Ramos, D. P., Silva, A., Leonel, S., Costa, S. M., Damatto-Júnior, E. V. (2010) Yield and fruit quality of 'Paluma' guava pruned at different times in subtropical climate. *Revista Ceres*, 57(5), 659-664.
- Resende, M. D., FURLANI JÚNIOR, E. N. E. S., Moraes, M. D., & FAZUOLI, L. C. (2001) Estimativas de parâmetros genéticos e predição de valores genotípicos no melhoramento do cafeeiro pelo procedimento REML/BLUP. *Bragantia*, 60(3), 185-193.
- Resende, M.D.V. (2002) SELEGEN-REML/BLUP: computerized genetic selection; user handbook. Embrapa Florestas, Colombo, PR, Brazil.
- Resende, M.D.V.(2007) *Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético*. Colombo: Embrapa Florestas, 359p.
- Resende, M.D.V.;Duarte (2007) Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. *Pesquisa Agropecuária Tropical* (UFG), v. 37, p. 182-194.
- Risterucci, A. M., Duval, M. F., Rohde, W., & Billotte, N. (2005) Isolation and characterization of microsatellite loci from *Psidium guajava* L. *Molecular Ecology Notes*, 5(4), 745-748.
- Rocha, M. das G. de B.; Pires, I.E.; Rocha, R.B.; Xavier, A.; Cruz, C.D. (2006) Avaliação genética de progênies de meio irmãos de *Eucalyptus grandis* por meio dos procedimentos REML/BLUP e da ANOVA. *Scientia Forestalis*, n.71, p.99- 107.
- Rocha, R. B.; Ramalho, A. R.; Teixeira, A. L.; Laviola, B. G.; Silva, F. D.; Militão, J. S. L. T. (2012) Eficiência da seleção para incremento do teor de óleo do pinhão-mansão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(1), 44-50.

- Rodrigues, W. P., Vieira, H. D., Barbosa, D. H., Souza Filho, G. R., & Candido, L. S. (2013) Adaptability and genotypic stability of *Coffea arabica* genotypes based on REML/BLUP analysis in Rio de Janeiro State, Brazil. *Genet. Mol. Res*, 12(3), 2391-2399.
- Rodriguez, N., Valdés-Infante, J., Becker, D., Velazquez, B., Gonzalez, G., Sourd, D., Rodriguez, J., Billotte, N., Risterucci, A.M., Ritter, E. and Rohde, W. (2007) Characterization of guava accessions by SSR markers, extension of the molecular Linkage map, and mapping of QTLs for vegetative and reproductive characters. *Acta. Hort.*, 735:201-215
- Rosado, A. M., Rosado, T. B., Alves, A. A., Laviola, B. G., Bhering, L. L. (2012) Seleção simultânea de clones de eucalipto de acordo com produtividade, estabilidade e adaptabilidade. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(7), 964-971.
- Rosado, A. M.; Rosado, T. B.; Resende Júnior, M. F. R.; Bhering, L. L.; Cruz, C. D. (2009) Ganhos genéticos preditos por diferentes métodos de seleção em progênies de *Eucalyptus urophylla*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44(12), 1653-1659.
- Sampaio, T. S., de Castro Nizio, D. A., White, L. A. S., de Oliveira Melo, J., Almeida, C. S., Alves, M. F., ... & Blank, A. F. (2016) Chemical diversity of a wild population of *Myrcia ovata* Cambessedes and antifungal activity against *Fusarium solani*. *Industrial Crops and Products*, 86, 196-209.
- Sandhu, S. K., Sarao, N. K., Goyal, M., Uppal, S. K., Singh, P., Kaur, S., & Kaur, J. (2016) Profiling of sugar beet genotypes for agronomical, sugar quality and forage traits and their genetic diversity analysis using SSR markers. *Electronic Journal of Plant Breeding*, 7(2), 253-266.
- Santos, C. A. F., Côrrea, L.C. Costa, S. R. (2011) Genetic divergence among *Pisium* accessions based on biochemical and agronomic variables. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 11: 149-15

- Santos, C. E. M., Bruckner, C. H., Cruz, C. D., de Siqueira, D. L., Pimentel, L. D., & Rosado, L. D. S. (2010) Repetibilidade em características do fruto do maracujazeiro. *Ceres*, 57(3).
- Santos, C.A.F.; Corrêa, L.C.; Costa, S.R. (2011) Genetic divergence among *Psidium* accessions based on biochemical and agronomic variables. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, Londrina, v.11, n.2, p.149-156.
- Santos, E. A., Souza, M. M., Abreu, P. P., Araújo, I. S., Viana, A. P., de Almeida, A. A. F., & de Oliveira Freitas, J. C. (2012) Confirmation and characterization of interspecific hybrids of *Passiflora* L.(Passifloraceae) for ornamental use. *Euphytica*, 184(3), 389-399.
- Santos, F. S.; Amara L Júnior, A. T; Freitas Júnior, S.P.; Rangel, R.M.; Pereira, M. G. (2007) Predição de ganhos genéticos por índices de seleção na população de milho pipoca UNB-2U sob seleção recorrente. *Bragantia*, 66(3), 389-396.
- Santos, G. A., Resende, M. D. V., Silva, L. D., Higa, A., Assis, T. F. (2015) Genotypes x environments interaction for productivity of eucalyptus clones in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Revista Árvore*, 39(1), 81-91.
- Schueler S, Tusch A, Schuster M, Ziegenhagen B (2003) Characterization of microsatellites in wild and sweet cherry (*Prunus avium* L.) —markers for individual identification and reproductive processes. *Genome* 46:95–102
- Selkoe, K. A, Toonen, R. J. (2006) Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology letters*, v.9(5), p. 615–29.
- Serrano, L. A. L., Marinho, C. S., Ronchi, C. P., Lima, I. D. M., Martins, M. V. V., & Tardin, F. D. (2007) Goiabeira 'Paluma' sob diferentes sistemas de cultivo, épocas e intensidades de poda de frutificação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(6), 785-792.
- Sitther, V., Zhang, D., Harris, D. L., Yadav, A. K., Zee, F. T., Meinhardt, L. W., & Dhekney, S. A. (2014) Genetic characterization of guava (*Psidium guajava* L.) germplasm in the United States using microsatellite markers. *Genetic resources and crop evolution*, 61(4), 829-839.

- Smith, H.F.V. (1936) A discriminant function for plant selection. *Annals of Eugenics*, 7,240- 250.
- Sobral, M.; Proença, C.; Souza, M.; Mazine, F., Lucas, E. (2012) Myrtaceae. In: Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000171>>. Acesso em 15 Ago 2016.
- Soubihe Sobrinho, J., & Gurgel, J. T. A. (1962) Amount of natural cross pollination in guavas summary. *Bragantia*, 2115-20.
- Sturion, J.A.; Resende, M.D.V. (2005) Seleção de progênes de erva-mate (*Ilexparaguarensis* St. Hil.) para produtividade, estabilidade e adaptabilidade temporal de massa foliar. *Boletim de Pesquisa Florestal*, Colombo, n.50, p.37-51.
- Teixeira, G. H., Durigan, J. F. (2010) Effect of controlled atmospheres with lowoxygen levels on extended storage of guava fruit (*Psidium guajava* L. 'Pedro Sato'). *HortScience*, 45(6), 918-924.
- Teixeira, R.; Amarante, C. V. T.; Boff, M. I. C.; Ribeiro, L. G. (2011) Controle de pragas e doenças, maturação e qualidade de maçãs' imperial gala'submetidas ao ensacamento. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 33(2), 394-401.
- Teodoro, P. E., Laviola, B. G., Martins, L. D., Amaral, J. F. T., & Rodrigues, W. N. (2016) Mixed models identify physic nut genotypes adapted to environments with different phosphorus availability. *Genetics and molecular research*, 15(3).
- Teodoro, P.E.; Silva Junior, A.C. da; Correa, C.C.; Ribeiro, L.P.; Oliveira, E.P. de; Lima, M.F.; Torres, F.E.(2014) Path analysis and correlation of two genetic classes of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Agronomy*, v.13, p.23-28.
- Thaipong, K.; Boonprakob, U.; Crosby, K.; Cisneros-Zevallos, L.; Byrne, D.H. (2006) Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, San Diego, v.19, p.669-675.

- Uma, M. S., Hegde, N., & Hittalmani, S. (2016) Identification of SSR marker associated with rust resistance in cowpea (*Vigna unguiculata* L.) using bulk segregant analysis. *Legume Research- An International Journal*, 39 (1).
- UPOV. (1987) Guidelines for the conduct of test for distinctness, homogeneity and stability. Guava (*Psidium guajava* L.). Geneva, Switzerland. <http://www.upov.int/edocs/tgdocs/en/tg110.pdf>
- Valdés-Infante J, Becker D, Rodríguez NN, Velásquez B, González G, Sourd D, (2003) Molecular characterization of Cuban accessions of guava (*Psidium guajava* L.), establishment of a first molecular linkage map and mapping of QTLs for vegetative characters. *J Genet Breed*; 57:349-58.
- Vencovsky, R. (1987) Herança quantitativa. In: Paterniani, E., Viegas, G.P. (Ed.). *Melhoramento e produção do milho*. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 1, 135-214.
- Verardi, C.K.; Resende, M.D.V.; Costa, R.B.; Gonçalves, P.S. (2009) Adaptability, stability and progenies selection of rubber. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 44: 1277-1282
- Viana, A.P.; Resende, M.D.V., (2014) *Genética Quantitativa no Melhoramento de Fruteiras*. 1. ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência, v. 300. 282p.
- Vij, S., Pathak, D., Kaur, N., Pahwa, K., & Gill, M. S. (2016) Development and molecular confirmation of interspecific hybrids between *Gossypium hirsutum* and *Gossypium arboreum*. *Agricultural Research Journal*, 53(2), 169-172.
- Vivas, M., Silveira, S.F., Vivas, J.M.S., & Pereira, M.G. (2013) Prediction of genetic gain and progenies selection of papaya for resistance to black-spot. *Tropical Plant Pathology*, 38:142.
- Vivas, M.; Silveira, S. F. D.; Pereira, M. G. (2012) Prediction of genetic gain from selection indices for disease resistance in papaya hybrids. *Revista Ceres*, 59(6), 781-786.

- Vismara, E.S, Mehtätalo, L., & Batista, J. L. F. (2015) Linear mixed-effects models and calibration applied to volume models in two rotations of *Eucalyptus grandis* plantations. *Canadian Journal of Forest Research*, 46(1), 132-141.
- Weber, J.L. (1990) Informativeness of human (dC-dA)<sub>n</sub> (dG-dT)<sub>n</sub> polymorphisms. *Genomics*, San Diego, v.7, p.524-530.
- White, T.; Hodge, G. (1989) Predicting breeding values with application in forest tree improvement. *Dordrecht: Kluwer Academic*, 367p.
- Wilson, P. G., O'Brien, M. M., Gadek P. A., Quinn C. J.(2001) Myrtaceae revisited: A reassessment of infra familial groups. *American Journal of Botany*. 88(11): 2013–2025.
- Xavier, M. A., Pinto, L. R., Fávero, T. M., Perecin, D., Carlini-Garcia, L. A., & Landell, M. G. A. (2014) Paternity identification in sugarcane polycrosses by using microsatellite markers. *Genetics and Molecular Research*, 2268-2277.