

**DESENVOLVIMENTO DE LINHAGENS DE MAMOEIRO ASSISTIDO
POR IMAGENS DIGITAIS**

DIEGO FERNANDO MARMOLEJO CORTES

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

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

DESENVOLVIMENTO DE LINHAGENS DE MAMOEIRO ASSISTIDO
POR IMAGENS DIGITAIS

DIEGO FERNANDO MARMOLEJO CORTES

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

Orientador: Messias Gonzaga Pereira

CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ
MARÇO – 2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCH / UENF

009/2017

C828 Cortes, Diego Fernando Marmolejo.

Desenvolvimento de linhagens de mamoeiro assistido por imagens digitais / Diego Fernando Marmolejo Cortes – Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

159 f. : il

Orientador: Messias Gonzaga Pereira.

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

Bibliografia: f. 127 – 145.

1. *Carica papaya*. 2. Fenotipagem Digital. 3. Gerações Segregantes. 4. Análise de Imagens. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD – 634.651

DESENVOLVIMENTO DE LINHAGENS DE MAMOEIRO ASSISTIDO
POR IMAGENS DIGITAIS

DIEGO FERNANDO MARMOLEJO CORTES

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

Aprovada em: 17 de março de 2017

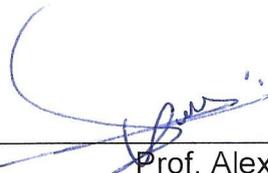
Comissão Examinadora:



Prof. Pedro Corrêa Damasceno Junior (D.Sc., Genética e Melhoramento de
Plantas) - UFRRJ



Prof^a. Helaine Christine Cancela Ramos (D.Sc., Genética e Melhoramento de
Plantas) - UENF



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



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

Aos meus pais Fanny Cortes e Jose Otoniel Marmolejo e às minhas irmãs Lilian Jimena Marmolejo e Jakeline Marmolejo, pelo apoio incondicional, dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Jesus Cristo, pela vida e realização desse sonho.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade.

À Capes, pela concessão da bolsa sem a qual não seria possível a realização dessa conquista.

À empresa Caliman Agrícola, pela doação de material genético para a realização da pesquisa.

Ao meu orientador professor Messias Gonzaga Pereira, pelos ensinamentos, pela confiança e atenção na realização deste trabalho.

Aos professores do LMGV, em especial, aos meus conselheiros professores Alexandre Pio Viana e Helaine Christine Cancela Ramos pelas valiosas contribuições.

Aos colegas de laboratório, pelo apoio na condução da pesquisa e pela amizade, Renato, Julio, Tathianne, Alinne e Nádia.

Ao engenheiro Agrônomo Geraldo Ferregueti pela atenção dispensada durante estes dois anos na Empresa Caliman Agrícola S/A.

Ao Ailton Sincora e demais funcionários da Caliman, pelos cuidados com nosso experimento.

Aos meus pais Jose Otoniel e Fanny e às minhas irmãs Lilian e Jakeline, por sempre acreditarem nos meus sonhos e me apoiarem em todas as situações.

À Hellen Moura pelo apoio incondicional, carinho em todos os momentos e auxílio na condução do experimento.

Ao secretário Daniel, por todo o apoio durante o doutorado;

A todos os que me ajudaram na realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO GERAL	4
2.1 Objetivos específicos	4
3. CAPÍTULOS.....	6
3.1 DIVERGÊNCIA GENÉTICA, REPETIBILIDADE E SELEÇÃO DE INDIVÍDUOS SUPERIORES SEGREGANTES DE UMA POPULAÇÃO F ₂	6
3.1.1 INTRODUÇÃO.....	6
3.1.2 REVISÃO.....	8
3.1.2.1 Aspectos gerais da cultura do mamoeiro	8
3.1.2.2 Importância econômica	9
3.1.2.3 Programa UENF/Caliman e sua contribuição ao melhoramento genético do mamoeiro.....	10
3.1.2.4 Uso da repetibilidade no melhoramento de fruteiras	12
3.1.2.5 Seleção de indivíduos superiores em populações F ₂ segregantes	14
3.1.2.6 Análise da dissimilaridade genética no mamoeiro.....	15

3.1.2.7 Procedimento REML/Blup no melhoramento de fruteiras.....	17
3.1.3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1.3.1 Material Genético	20
3.1.3.2 Local de condução do experimento.....	20
3.1.3.3 Características avaliadas	21
3.1.3.4 Análise estatística	21
3.1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
3.1.4.1 Estimativas de repetibilidade.....	25
3.1.4.2 Seleção combinada e identificação dos indivíduos superiores...32	
3.1.4.3 Distância genética entre indivíduos F ₂	35
3.1.5 CONCLUSÕES.....	39
3.2 VALIDAÇÃO DE UMA METODOLOGIA DE FENOTIPAGEM DE CARACTERÍSTICAS MORFOAGRONÔMICAS EM MAMOEIRO BASEADA EM IMAGENS DIGITAIS	40
3.2.1 INTRODUÇÃO.....	40
3.2.2. REVISÃO.....	41
3.2.2.1 Aplicações das metodologias baseadas em imagens digitais na fenotipagem de plantas	41
3.2.3 MATERIAL E MÉTODOS	44
3.2.3.1 Fenotipagem das características morfoagronômicas da planta .44	
3.2.3.2 Fenotipagem de características morfoagronômicas do fruto	45
3.2.3.3 Análise estatística	47
3.2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
3.2.4.1 Fenotipagem das características morfoagronômicas da Planta .48	
3.2.4.2 Fenotipagem de características morfoagronômicas do fruto	54
3.2.5 CONCLUSÕES.....	62
3.3 SELEÇÃO DE PROGÊNIES AGRONOMICAMENTE SUPERIORES F _{2:3} VIA PROCEDIMENTO REML/Blup.....	63
3.3.1 INTRODUÇÃO.....	63

3.3.2 REVISÃO.....	65
3.3.2.1 Condução de populações segregantes e desenvolvimento de linhagens.....	65
3.3.3 MATERIAL E MÉTODOS	68
3.3.3.1 Material genético	68
3.3.3.2 Local e delineamento experimental	68
3.3.3.3 Características avaliadas	69
3.3.3.4 Análise estatística	70
3.3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
3.3.4.1 Ensaio de competição Progênies versus testemunhas	75
3.3.4.2 Agrupamento de médias pelo critério de Skott - Knott	79
3.3.4.3 Parâmetros genéticos estimados nas 30 progênies $F_{2:3}$	83
3.3.4.4 Seleção entre e dentro de progênies $F_{2:3}$	89
3.3.5. CONCLUSÕES.....	93
3.4. EFICIÊNCIA DA FENOTIPAGEM BASEADA EM IMAGENS DIGITAIS NA SELEÇÃO DE LINHAGENS ENDOGÂMICAS RECOMBINANTES DE MAMOEIRO	95
3.4.1 INTRODUÇÃO.....	95
3.4.2 REVISÃO DE LITERATURA.....	96
3.4.2.1 Aplicação da análise e processamento de imagens ao melhoramento genético	96
3.4.3 MATERIAL E MÉTODOS	98
3.4.3.1 Material genético e descrição do experimento	98
3.4.3.2 Fenotipagem de características morfoagronômicas utilizando a metodologia manual	99
3.4.3.3 Fenotipagem de características morfoagronômicas utilizando análise de imagens	99
3.4.3.4 Análise estatística	99
3.4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	101

3.4.4.1 Estimativas de componentes de variância e parâmetros genéticos.....	101
3.4.4.2 Seleção de linhagens e estimação de ganhos genéticos	105
3.4.5 CONCLUSÕES.....	109
3.5 ANÁLISE COLORIMÉTRICA DO EPICARPO DE FRUTOS DE LINHAGENS ENDOGÂMICAS DE MAMOEIRO VIA ANÁLISE DE IMAGENS DIGITAIS.....	111
3.5.1 INTRODUÇÃO.....	111
3.5.2 REVISÃO.....	112
3.5.2.1 Aplicação das metodologias baseadas em imagens na análise colorimétrica do epicarpo de frutos	112
3.5.3 MATERIAL E MÉTODOS	114
3.5.3.1 Material Genético	114
3.5.3.2 Local e delineamento experimental	114
3.5.3.3 Fenotipagem de características associadas à qualidade de frutos	115
3.5.3.4 Análise estatística	117
3.5.3.4.1 Estimações das correlações fenotípicas e genéticas	118
3.5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	119
3.5.4.1 Estimativas de parâmetros genéticos.....	119
3.5.4.2 Estimativas de correlações fenotípicas e genotípicas	122
3.5.5 CONCLUSÕES.....	125
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	127

RESUMO

CORTES, Diego Fernando Marmolejo; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; março 2017; Desenvolvimento de linhagens de mamoeiro assistido por imagens digitais; Orientador: Prof. Messias Gonzaga Pereira; Conselheiros: Alexandre Pio Viana e Helaine Christine Cancela Ramos.

A importância econômica do mamoeiro para o agronegócio brasileiro e o reduzido número de cultivares utilizados nas lavouras comerciais, revela a necessidade de ampliar a oferta de cultivares. O presente estudo teve como objetivo desenvolver linhagens superiores selecionadas em gerações segregantes de mamoeiro empregando a fenotipagem assistida por imagens. Cinco trabalhos derivados deste estudo serão aqui apresentados. O primeiro contempla a estimação da distância genética, repetibilidade e seleção de indivíduos segregantes de uma população F_2 com base em características morfoagronômicas. Foram obtidas elevadas magnitudes de repetibilidade ($\rho > 0,6$) para altura da planta e diâmetro do caule e moderadas ($0,30 \leq \rho \leq 0,6$) para comprimento do fruto, massa média do fruto e espessura da polpa. Foram selecionados 25 indivíduos superiores para as características avaliadas utilizando um índice de seleção baseado em pesos atribuídos. Os indivíduos que apresentaram as maiores médias foram os mais distantes geneticamente da população F_2 . No segundo trabalho, foi validada uma metodologia de fenotipagem baseada em imagens digitais. Em plantas da variedade 'THB' e do híbrido 'UENF/Caliman-01' foram analisadas imagens para estimar altura da planta, diâmetro do caule, altura do primeiro fruto, número de

frutos comerciais e deformados. Em frutos de THB foram estimados o comprimento, diâmetro e volume empregando paquímetro e processamento de imagens. As médias das características estimadas utilizando imagens não apresentaram diferenças significativas das médias mensuradas pela metodologia tradicional. O terceiro trabalho teve como objetivo realizar a seleção combinada em 30 progênies $F_{2:3}$ de características morfoagronômicas via metodologia dos modelos mistos (REML/Blup). As magnitudes das estimativas de herdabilidade indicaram que entre as progênies existe considerável variabilidade genética para características de grande importância como produção, frutos comerciais, teor de sólidos solúveis e firmeza do fruto. Utilizando um índice baseado em valores genéticos foram selecionadas seis progênies superiores, obtendo expressivos ganhos genéticos (Gs) para produção ($22\% \leq Gs \leq 43\%$) e frutos comerciais ($17\% \leq Gs \leq 38\%$) nas progênies selecionadas. Foram selecionadas seis linhagens superiores dentro das melhores progênies. O quarto trabalho avaliou a eficiência da metodologia de fenotipagem baseada em análise de imagens (FAI) em relação às estimativas de parâmetros genéticos e seleção de linhagens endogâmicas F_4 . A metodologia FAI foi eficiente na avaliação fenotípica com precisão e acurácia seletiva na captação da variabilidade genética e nos ganhos genéticos quando comparada à fenotipagem manual. O último trabalho avaliou a variação da cor da superfície do epicarpo de frutos durante o amadurecimento via análise de imagens. Foram quantificados os valores de vermelho (R), verde (G) e azul (B) do sistema de cores RGB e L^* , a^* , b^* , hue e croma do sistema CieLab. Esses valores foram correlacionados com características de qualidade como firmeza do fruto, firmeza da polpa, teor de sólidos solúveis, massa média de fruto e espessura da polpa. As características firmeza do fruto e firmeza da polpa apresentaram elevados e moderados coeficientes de correlação genética com as características b^* , Hue, Croma, r e b. A metodologia baseada em imagens é uma ferramenta eficiente que pode ser utilizada para assistir a fenotipagem de características morfoagronômicas no melhoramento genético do mamoeiro. Essa metodologia possibilita mensurações não destrutivas, com elevada precisão, pouca dependência de mão de obra, economia de recursos financeiros e rapidez na coleta de dados. A expectativa é que a mesma permita ampliar o quantitativo de genótipos em avaliação, com consequentes incrementos nos ganhos genéticos.

ABSTRACT

CORTES, Diego Fernando Marmolejo; D. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; March 2017; Development of papaya lines assisted by digital images; Adviser: Messias Gonzaga Pereira; Committee members: Alexandre Pio Vianna and Helaine Christine Cancela Ramos.

The economic importance of papaya to the Brazilian agribusiness and the reduced number of cultivars used to compose commercial crops reveals the need to increase the number of cultivars. This study aimed to develop superior lines assisted by digital images. Five papers derived from this study will be presented here. The first one considers the estimation of genetic distance, repeatability and selection of segregating individuals of an F_2 population based on morpho-agronomic traits. High coefficients of repeatability ($\rho > 0.6$) were obtained for plant height and stem diameter and moderate for fruit mass, fruit length and thickness of the pulp. The 25 superior individuals were selected for the evaluated traits using a selection index based on assigned weights. The individuals with the highest averages were the most genetically distant in the F_2 population. In the second paper, a methodology of image-based phenotyping was validated. In the 'THB' and 'UENF / Caliman-01' cultivars, images were analyzed to estimate plant height, stem diameter, first fruit height and number of commercial and deformed fruits. In 'THB' fruits, the length, diameter and volume were estimated using caliper and image processing. The averages of the estimated traits using digital images were not significantly different from the averages measured manually. The third paper

aimed to perform the combined selection in 30 $F_{2:3}$ progenies by mixed models methodology. The magnitudes of the heritability estimates indicated that there is considerable genetic variability among the progenies for important traits such as plant production, number of commercial fruits, soluble solids content and fruit firmness. Using an index based on genetic values, six superior progenies were selected, obtaining significant genetic gains (Gs) for production ($22\% \leq Gs \leq 43\%$) and for number of commercial fruits ($17\% \leq Gs \leq 38\%$) in the selected progenies. A total of six superior lines were selected within the selected progenies. The fourth paper evaluated the efficiency of the image-based phenotyping (FAI) in relation to estimate genetic parameter and selection of F_4 inbred lines. The FAI methodology was efficient in the phenotypic evaluation with precision and selective accuracy in the capture of the genetic variability and in the genetic gains when compared to the manual phenotyping. The last paper aimed to evaluate the variation of fruit color of inbred lines by image analysis. The values of R, G, B the RGB color space and the L^* , a^* , b^* , hue and chroma of CieLab were quantified. These values were correlated with fruit firmness, pulp firmness, soluble solids content, fruit mass and pulp thickness. High correlation coefficients were obtained between b^* Hue, chroma, r and b. The image-based methodology is an efficient tool that can be used to assist the phenotyping of morpho-agronomic traits in the papaya breeding program. This methodology performed non-destructive measurements, with high precision, low dependent on labor, resources saving and speed in data collecting. The expectation is that it allows increasing the quantitative of genotypes, with increases in the genetic gains.

1. INTRODUÇÃO

O mamoeiro é uma das espécies frutíferas de maior importância econômica das regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo amplamente conhecido por seus benefícios nutricionais e medicinais. O Brasil tem se destacado no cenário internacional, sendo o segundo maior produtor, alcançando em 2014 uma produção de 1,6 milhões de toneladas, representando 12,7% da produção mundial (FAOSTAT, 2017). Apesar da importância desta fruteira para o agronegócio brasileiro, os plantios comerciais são estabelecidos com um número reduzido de cultivares. Isto resulta em restrita variabilidade genética, limita a expansão da cultura para novas áreas e gera vulnerabilidade ao ataque de pragas e doenças. Esta situação pode ser mudada com o desenvolvimento de novas cultivares adaptadas às diferentes regiões produtoras, resistentes a pragas e doenças, altamente produtivas e com boa qualidade de frutos que atendam as demandas dos mercados interno e externo (Ramos et al., 2014a).

Tratando-se de uma espécie frutífera, o mamoeiro apresenta um ciclo reprodutivo longo, o que torna seu melhoramento diferenciado de espécies anuais, resultando em incrementos dos recursos financeiros e o tempo empregado no desenvolvimento de cultivares. Uma alternativa para aumentar a velocidade de resposta dos programas de melhoramento, é avaliar o desempenho de genótipos em gerações iniciais das populações de trabalho. Além disso, esta estratégia permite aos melhoristas concentrar esforços e recursos nos genótipos com maior potencial para o melhoramento. Ressalta-se que o sucesso na

identificação de genótipos promissores nas gerações iniciais depende da existência de variabilidade genética para as características de interesse ao melhoramento na população de trabalho. Em espécies autógamas a hibridação tem sido empregada para gerar variabilidade genética em populações segregantes visando o desenvolvimento de linhagens endogâmicas que possam ser lançadas como variedade ou utilizadas em programas de obtenção de híbridos como genitoras. No mamoeiro, o desenvolvimento de variedades e híbridos é possível devido à reprodução das plantas hermafroditas, que permite autofecundação sem sofrer depressão por endogamia (Dantas e Lima, 2001).

O desenvolvimento de linhagens a partir de programas de hibridação envolve as fases de endogamia para atingir o nível de homozigose desejado e obter genótipos estáveis, bem como a fase de seleção para identificação dos genótipos superiores. No caso de obtenção de híbridos, as linhagens são avaliadas quanto a sua capacidade combinatória, ensaios de competição de híbridos e produção de sementes híbridas (Fehr, 1987). Estas fases são realizadas através de métodos de condução de gerações segregantes, entre eles o método genealógico, o qual tem sido um dos mais utilizados para desenvolvimento de linhagens endogâmicas. Este método é caracterizado por realizar as fases de endogamia e seleção simultaneamente mantendo a genealogia de genitores e progênies, sendo utilizado para identificar genótipos superiores em gerações iniciais de endogamia. Empregando o método genealógico têm sido registradas e lançadas inúmeras cultivares em espécies autógamas mostrando a eficiência do método (Miranda et al., 2003; Savy Filho et al., 2007; Scheeren et al., 2007; Carbonell et al., 2010).

No mamoeiro, a seleção de genótipos superiores é realizada com base no desempenho agrônômico dos genótipos para características relacionadas com o rendimento, qualidade de frutos, resistência a estresses bióticos e tolerância a estresses abióticos. Por apresentar um ciclo reprodutivo longo, as características expressam-se mais de uma vez em um mesmo indivíduo, sendo necessário realizar avaliações repetidas sobre diferentes condições ambientais. Esses aspectos peculiares demandam rigor e precisão nos métodos de seleção tendo em vista a redução da taxa de sobrevivência das plantas nos experimentos ao longo do ciclo, experimentos formados por várias repetições e grande número de indivíduos.

No mamoeiro, a fenotipagem de características de interesse no melhoramento utilizando a metodologia tradicional, é uma atividade cara, demorada que demanda mão de obra intensiva e muitas vezes destrutiva. Isto limita o tamanho dos experimentos e reduz as chances de identificar genótipos superiores. Mesmo diante dos avanços das técnicas de genotipagem como estratégia para auxiliar o melhoramento de plantas, os dados fenotípicos ainda são necessários para estudos de seleção genômica, genética de associação e seleção assistida por marcadores (Li et al., 2014).

Com o intuito de melhorar a eficiência da fenotipagem das características em nível de campo e laboratório, diversas metodologias foram desenvolvidas. Entre essas metodologias, as baseadas em análise e processamento de imagens digitais, e visão computacional vêm ganhando interesse na fenotipagem de plantas. A incorporação dessas metodologias à rotina dos programas de melhoramento tem permitido aperfeiçoar a avaliação de características de interesse (Honsdorf et al., 2014; Parent et al., 2015). Quando essas metodologias foram empregadas na avaliação de genótipos, a quantificação precisa do fenótipo aumentou a proporção de variância devida aos efeitos genéticos com reflexos positivos nos ganhos genéticos (Honsdorf et al., 2014; Parent et al., 2015).

A incorporação do procedimento REML/BLup nos programas de melhoramento de espécies frutíferas também tem contribuído para aumentar a eficiência na avaliação genética dos candidatos à seleção. Este procedimento refere-se à estimação dos componentes da variância pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML) e a estimação dos valores genéticos pelo melhor preditor linear não viciado (BLUP), proporcionando estimações e predições mais precisas de parâmetros e valores genéticos (Resende et al., 2006). A expectativa é que a combinação da fenotipagem baseada em imagens e o procedimento REML/Blup permitam aumentar a eficiência dos programas de melhoramento genético do mamoeiro.

2. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi desenvolver linhagens agronomicamente superiores assistido por imagens digitais.

2.1 Objetivos específicos

- Estimar a distância genética entre indivíduos de uma população F_2 segregante;
- Estimar os coeficientes de repetibilidade e selecionar indivíduos superiores de uma população F_2 segregante, baseado nas principais características da cultura usando o procedimento REML/Blup;
- Validar uma metodologia de análise de imagens digitais para estimar características morfoagronômicas da planta e estimar características morfoagronômicas do fruto através de processamento de imagens digitais;
- Avaliar o desempenho agrônomo de 30 progênies $F_{2:3}$ em relação a testemunhas;
- Estimar parâmetros genéticos e obter os valores genéticos para características morfoagronômicas em progênies $F_{2:3}$ utilizando o procedimento REML/Blup;

- Aplicar a seleção combinada, bem como a seleção direta em progênies $F_{2:3}$ empregando um índice baseado em valores genéticos padronizados; realizar a seleção das melhores progênies e, dentro destas, os melhores genótipos para avanço de geração;
- Avaliar a eficiência da metodologia de fenotipagem baseada em análise de imagens digitais em relação às estimações de parâmetros genéticos e seleção de linhagens endogâmicas utilizando o procedimento REML/Blup;
- Analisar a variação genética da cor da superfície do epicarpo de frutos de mamão durante o amadurecimento via análise de imagens digitais visando a fenotipagem não destrutiva de características associadas à qualidade de frutos.

3. CAPÍTULOS

3.1 DIVERGÊNCIA GENÉTICA, REPETIBILIDADE E SELEÇÃO DE INDIVÍDUOS SUPERIORES SEGREGANTES DE UMA POPULAÇÃO F₂

3.1.1 INTRODUÇÃO

Em fruteiras como o mamoeiro, um programa de melhoramento genético envolve várias etapas de implantação e execução de experimentos para a seleção de genótipos superiores. Isto demanda mão de obra, recursos financeiros e agrega o fator tempo como um grande desafio para os melhoristas. Nestas espécies, a possibilidade de avaliar o desempenho das progênes *per se* em gerações iniciais de endogamia, é de grande valia para os programas de melhoramento, por permitir aos melhoristas concentrar esforços e recursos nas combinações com maior potencial de melhoramento. Para tanto, uma elevada eficiência experimental, aliada ao uso de métodos de seleção apropriados, possibilita a seleção de indivíduos superiores nas gerações iniciais.

Em espécies autógamas e alógamas a hibridação tem sido uma estratégia amplamente empregada para gerar variabilidade genética em populações segregantes que possibilite a seleção de genótipos superiores. Essa variabilidade genética disponível pode ser quantificada por meio de estudos de

diversidade, com a finalidade de auxiliar a identificação de genótipos superiores e distantes geneticamente, para compor as próximas gerações de melhoramento. A distância genética pode ser avaliada a partir de características morfoagronômicas, morfológicas e moleculares por vários métodos multivariados, tais como análise de componentes principais, variáveis canônicas e métodos aglomerativos (Kim e Ward, 1997; Bered et al., 2002).

Nas avaliações das gerações segregantes de melhoramento do mamoeiro são realizadas, muitas vezes, medições ou colheitas repetidas no mesmo indivíduo. Portanto, é muito importante o conhecimento do número de medições (colheitas) necessárias, para selecionar os genótipos superiores com acurácia no menor tempo e custo possível (Lopes et al., 2001). Essa finalidade pode ser verificada pelo coeficiente de repetibilidade. Este parâmetro mede a correlação entre as medidas realizadas em um mesmo indivíduo cujas avaliações foram repetidas no tempo ou no espaço. Assim, valores altos de repetibilidade de uma característica indicam que é possível prever o valor real dos indivíduos com poucas medições (Falconer, 1987).

Considerando que o sucesso da seleção depende da variabilidade genética e da acurácia dos métodos de seleção, é importante o uso de metodologias que estimem os componentes de variância e permitam a previsão dos valores genéticos de indivíduos que sejam candidatos para a seleção (Resende, 2007). Um procedimento ótimo de avaliação genotípica refere-se ao componente da variância (REML)/valores genotípicos (BLUP) que utiliza a modelagem mista, proporcionando estimações e previsões mais precisas de parâmetros genéticos e valores genéticos (Resende, 2006). Esses componentes de variância facilitam a estimação dos parâmetros genéticos, dentre os quais, a herdabilidade e repetibilidade são os mais importantes (Resende, 2007).

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivos: estimar a distância genética entre indivíduos de uma população F_2 segregante; estimar os coeficientes de repetibilidade e selecionar indivíduos superiores, baseado nas principais características da cultura usando a metodologia dos modelos mistos.

3.1.2 REVISÃO

3.1.2.1 Aspectos gerais da cultura do mamoeiro

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) pertence à família Caricaceae, gênero *Carica*. Esta família é formada por seis gêneros: *Vanconcellea*, *Jacaratia*, *Jarilla*, *Cylicomorpha*, *Horovitzia* e *Carica*, sendo *Carica* o de maior importância econômica (Badillo, 1971, 2000). Segundo Badillo (1993), o mamoeiro é originário do Sul do México e Norte da América Central, onde se encontra na forma dioica. Um estudo filogenético indicou que o mamoeiro forma um pequeno clado confinado a México e Guatemala, que inclui três espécies herbáceas (*Jarilla chocola*, *J. heterophylla*, *J. nana*) e uma espécie arbustiva (*Horovitzia cnidoscolonoides*) (Carvalho e Renner, 2012). A descoberta de que *C. papaya* é mais próximo a estas espécies herbáceas pode ter implicações para os melhoristas que até agora tentaram a introgressão de características desejáveis das espécies do gênero *Vasconcellea* (Carvalho e Renner, 2012).

O mamoeiro é uma espécie diploide com $2n=2x=18$ cromossomos (Damasceno Júnior et al., 2009a; Damasceno Júnior et al., 2010). A herança do sexo foi inicialmente descrita como monogênica com três alelos determinando feminilidade (*m*), masculinidade (M^1) e hermafroditismo (M^2), respectivamente (Holfmeyr 1938). Storey (1941) determinou que os indivíduos portadores dos genótipos *mm*, M^1m e M^2m , são denominados ginoicos, androicos e ginoicos-andromonoicos, respectivamente. As combinações dominantes $M^1 M^1$, $M^1 M^2$ e $M^2 M^2$ são letais zigóticos (Storey, 1953).

No entanto, estudos recentes de sequenciamento de DNA têm revelado que a determinação do sexo no mamoeiro é determinada por uma região ligada ao sexo que se comporta como um cromossomo sexual XY, e masculinidade versus hermafroditismo controlado por regiões macho-específicas no cromossomo Y, denominadas Y^h (HSY) em hermafroditas e MSY em masculinas. Assim, as combinações XX, XY, XY^h determinam plantas femininas, masculinas e hermafroditas, respectivamente (Ming et al., 2007).

A reprodução preferencial do mamoeiro hermafrodita é autógamo facultativo com cleistogamia (Damasceno Júnior et al., 2009b). De acordo com Dantas e Lima (2001) o mamoeiro pode ser autofecundado sem expressiva

depressão por endogamia. Estas particularidades da espécie conferem uma grande vantagem ao melhoramento por permitir a obtenção de linhagens endogâmicas para desenvolvimento de variedades ou de híbridos.

3.1.2.2 Importância econômica

O mamoeiro é uma das fruteiras de maior importância econômica nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo amplamente conhecido por seus benefícios nutricionais e propriedades farmacológicas (Oliveira e Vitória, 2011). No Brasil, os frutos piriformes produzidos pelas plantas hermafroditas são preferidos e destinados aos mercados nacional e internacional.

O mamoeiro tem destaque entre as fruteiras por apresentar alto teor de vitaminas, minerais e proteínas. As folhas, frutos e caules, possuem o alcaloide carpaína e a enzima papaína amplamente utilizados em medicina. Na indústria têxtil, a papaína é utilizada para suavizar lã e seda. Além disso, esta enzima é utilizada na produção de borracha, goma de mascar e amaciamento de carne (Arango et al., 2010).

A produção mundial de mamão em 2014 foi de 12,5 milhões de toneladas, sendo os principais produtores Índia, Brasil, Nigéria, Indonésia e México. A Índia responde por 44,5% da produção mundial (5,6 milhões de toneladas). O Brasil, com uma produção de 1,6 milhões de toneladas, responde com 12,7% da produção mundial. A área colhida no mundo em 2014 foi de 411,6 mil hectares, sendo a Índia e Nigéria os países com maiores áreas. A Indonésia foi o país com maior produtividade, 75,8 kg h⁻¹ (FAOSTAT, 2017). O volume exportado de mamão no mundo, em 2013, foi de 293,4 mil toneladas, correspondendo a US\$ 226,7 milhões. O México foi o maior exportador, sendo responsável por 39,2% das exportações. A Guatemala ocupou a segunda posição, com 11% da exportação mundial, seguido do Brasil com 9,7% (FAOSTAT, 2017).

No Brasil os Estados da Bahia (794.565 toneladas) e do Espírito Santo (399.790 toneladas), são os maiores produtores e respondem por 75,59% da produção do país, seguidos dos Estados do Ceará (98.773 toneladas) Minas Gerais (90.052 toneladas) e Rio Grande do Norte (69.956) (IBGE, 2016).

3.1.2.3 Programa UENF/Caliman e sua contribuição ao melhoramento genético do mamoeiro

No Brasil, três instituições são responsáveis pela maioria das pesquisas desenvolvidas no melhoramento genético do mamoeiro. A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), o Instituto Capixaba de pesquisa e Extensão Rural e a Empresa Brasileira de pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Mandioca e Fruticultura). A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF estabeleceu, a partir de 1996, um programa de melhoramento genético do mamoeiro que tem como principal objetivo o desenvolvimento de genótipos superiores capazes de contribuir substancialmente com o agronegócio do mamão no Brasil (Pereira et al., 2015).

O programa é sustentado por uma equipe multidisciplinar que atua nas áreas de melhoramento clássico, citogenética, genética molecular, fisiologia de pós-colheita, fitopatologia e bioinformática. O programa também busca contribuir na formação de profissionais (Agrônomos, Biólogos, Mestres e Doutores), gerar e divulgar o conhecimento científico na forma de artigos publicados (Pereira et al., 2015). Como passo inicial, a equipe definiu estratégias específicas para o melhoramento da cultura. No que diz respeito aos aspectos reprodutivos, procurou-se conhecer as taxas de polinização cruzada, considerando os dois grupos de germoplasma, grupo Solo e grupo Formosa (Damasceno Junior et al., 2009a). Outros aspectos reprodutivos associados à gametogênese, ao cariógrama da espécie, dentre outros foram também investigados (Damasceno Junior et al., 2009a; Damasceno Junior et al., 2010).

O conhecimento da herança das características é um componente importante para definir o tipo de cultivar a ser desenvolvido por um programa de melhoramento. Com o objetivo de obter essas informações, Cattaneo (2001) realizou um estudo de análise de médias e variâncias em diferentes gerações. Verificou-se que os efeitos aditivos apresentaram magnitudes maiores do que os desvios de dominância para número e peso de frutos. Por outro lado, os desvios de dominância apresentaram magnitude maior para a produtividade de frutos por planta. Desta forma, o estudo revelou que no mamoeiro existe a viabilidade de desenvolver tanto cultivares tipo linha pura quanto híbridos.

Após verificar a viabilidade de exploração da heterose em mamoeiro e considerando a existência de dois grupos heteróticos, foram realizados estudos visando identificar combinações híbridas promissoras para desenvolvimento de cultivares. Inicialmente, buscou-se priorizar os delineamentos genéticos de forma a aproveitar a distância genética intergrupo via dialelo parcial (Marin et al., 2006a, 2006b) e via uso de testadores (Ide et al., 2009). Como resultado da avaliação de combinações híbridas em dialelo parcial, foram registrados nove híbridos de mamoeiro, sendo um deles o primeiro híbrido de mamão brasileiro recomendado aos produtores, denominado de 'UENF/CALIMAN – 01', popularmente conhecido como Calimosa. Este híbrido tem mostrado superioridade em relação ao híbrido 'Tainung 01' do grupo Formosa, sendo uma alternativa para o cultivo do mamoeiro no país. Este híbrido é cultivado pelos agricultores de diferentes regiões do país e por agricultores de outros países pela exportação de suas sementes (Pereira et al., 2015).

Em uma segunda fase, considerando a existência da variabilidade intragrupo, procurou-se explorar a heterose intragrupo, utilizando o dialelo completo (Vivas et al., 2011; Cardoso et al., 2014). Verificou-se variabilidade genética entre os genitores e viabilidade para desenvolvimento de híbridos superiores. Além disso, o estudo revelou a possibilidade de gerar híbridos produtivos e de boa qualidade, com diferentes tamanhos de frutos, dependendo das combinações intragrupo ou intergrupo (Pereira et al., 2015). A partir dos resultados do dialelo completo e do uso de testadores, o programa UENF/CALIMAN estabeleceu um ensaio de Valor de Cultivo e Uso - VCU com vista ao lançamento de novos híbridos com adaptação para as regiões Sudeste e Nordeste, principais regiões produtoras de mamão do Brasil (Luz et al., 2015; Pereira et al., 2015). Com base no referido ensaio, foi possível o registro e recomendação junto ao Registro Nacional de Cultivares do MAPA quatro novos híbridos de mamão para os produtores nacionais de mamão denominados 'UC10', 'UC12', 'UC14' e 'UC16'. Os dois primeiros, 'UC10' e 'UC12' se enquadram tipicamente no padrão Formosa. Os dois últimos, 'UC14' e 'UC16', se apresentam mais como padrão Solo, porém de tamanho de frutos intermediários. Estes híbridos são bastante produtivos e com boa qualidade, superando em várias características ao híbrido 'Tainung-01'.

Ressalta-se também o desenvolvimento de populações segregantes como estratégia para o melhoramento do mamoeiro. Inicialmente, o programa de melhoramento UENF/Caliman utilizou o retrocruzamento para conversão sexual do genótipo Cariflora, do estado dioico para o ginodioico (Silva et al., 2007a). Com base neste estudo foram obtidas três gerações de retrocruzamento, das quais foram realizados vários estudos para condução de populações segregantes e desenvolvimento de linhagens superiores (Ramos et al., 2014a; Santa-Catarina, 2016; Barros et al., 2017). Destaca-se a obtenção de combinações híbridas altamente produtivas de fruta pequena com elevado potencial de lançamento, para atender as demandas dos mercados interno e externo.

O programa de melhoramento do mamoeiro da UENF já desenvolveu estudos na área de análise genômica com destaque para o desenvolvimento de um atlas formado por centenas de marcadores microssatélites baseado em sequências expressas com informações relevantes para o melhoramento genético da cultura. Merece destaque a condução de um estudo para construção de um mapa genético saturado com base em marcadores SNPs com potencial aplicação para identificação de QTLs e seleção genômica (Pereira et al., 2015).

3.1.2.4 Uso da repetibilidade no melhoramento de fruteiras

As características de interesse no melhoramento genético de fruteiras expressam-se mais de uma vez em um mesmo indivíduo, gerando medidas repetidas no tempo ou no espaço. A avaliação genética de indivíduos dessas espécies deve basear-se em modelos estatísticos que considerem o efeito de ambiente permanente, bem como o parâmetro associado à correlação fenotípica entre medidas repetidas em um mesmo indivíduo, o qual é chamado de repetibilidade (Viana e Resende, 2014). A repetibilidade expressa a proporção de variância de medidas simples, que é causada pelas diferenças permanentes ou não, localizadas entre indivíduos, tanto genética como de ambiente (Falconer, 1987).

Um aspecto importante da repetibilidade é a capacidade de expressar a variância média de determinado número de medidas correspondentes às variações genotípicas e aquelas proporcionadas pelas alterações dos efeitos permanentes do ambiente, como a proporção da variância fenotípica total. Desta

forma, o ganho em acurácia na estimação do valor fenotípico de uma característica, pode ser relacionado com a repetibilidade e com o número de medições (Falconer e Mackay, 1996). Assim, quando a repetibilidade for alta, a eficiência seletiva com o aumento do número de medidas será baixa e elevada quando a repetibilidade for baixa (Falconer, 1987; Cruz et al., 2014). A repetibilidade difere bastante, de acordo com a natureza da característica, e também com as propriedades genéticas da população, e as condições de ambiente sob as quais os indivíduos são mantidos (Falconer, 1987).

O conhecimento da repetibilidade é muito importante em programas de melhoramento de fruteiras, pois permite estimar o número de avaliações ou medidas necessárias para selecionar genótipos superiores com maior eficiência, com economia de custos, tempo e mão de obra. Também permite ao melhorista avaliar se a seleção em uma característica será confiável, ou seja, se os genótipos selecionados manterão sua superioridade indefinidamente (Cruz et al., 2014).

Dada a importância da repetibilidade para o melhoramento de fruteiras, diversos estudos foram realizados para estimar este parâmetro em características de importância agrônômica. Em cajazeiro foi estimada a repetibilidade do comprimento e largura da folha, número de folíolos por folha, peso da panícula, número de frutos por panícula, comprimento, diâmetro e massa do fruto, peso da semente, rendimento de polpa, teor de sólidos solúveis e acidez titulável (Soares et al., 2008). Em guaranazeiro foi estimada a repetibilidade da produção de sementes (Nascimento Filho et al., 2009). Em maracujazeiro foi estimada a repetibilidade da massa de fruto, massa de polpa com semente, espessura da casca, diâmetro equatorial e comprimento de fruto, e teor de sólidos solúveis (Neves et al., 2010). Em bacurizeiro foi estimada a repetibilidade de características relacionadas ao fruto como diâmetro, comprimento, cavidade interna, massa, número de sementes por fruto, espessura da casca, rendimento de polpa, teor de sólidos solúveis e acidez total titulável (Silva et al., 2010). Em laranja-doce foi estimada a repetibilidade da massa média de frutos, rendimento de suco, espessura de casca, sólidos solúveis e acidez total (Negreiros et al., 2014). Em pessegueiro foi estimada a repetibilidade de massa do fruto, os diâmetros equatorial e polar, firmeza da polpa, teor de sólidos solúveis e acidez titulável (Pires et al., 2015). No mamoeiro foi estimada a repetibilidade de

características ligadas ao rendimento, como massa média de fruto, número de frutos comerciais e produção (Luz et al., 2015). Estudos de repetibilidade de características de interesse para o melhoramento do mamoeiro como firmeza do fruto, teor de sólidos solúveis, espessura da polpa, altura da planta, diâmetro do caule, não foram encontrados.

3.1.2.5 Seleção de indivíduos superiores em populações F₂ segregantes

Para obter indivíduos superiores, é necessária a existência de variabilidade genética e a resposta simultânea favorável para uma série de características de importância agrônômica. De acordo com Allard (1971), são de grande importância o conhecimento do germoplasma, a variabilidade genética disponível na população de trabalho e o potencial agrônômico dos genótipos. Desta forma, pode-se empregar um processo seletivo que proporcione ganhos genéticos expressivos, de maneira que o melhoramento genético se torne viável (Allard, 1971).

No mamoeiro, como uma alternativa para reduzir custos de produção, os produtores usam sementes de híbridos em gerações F₂, F₃ e F₄ para compor as novas áreas de plantios, o que leva a perda das principais características dos híbridos originais, produzindo frutos com baixa qualidade (Costa e Pacova, 2003). No entanto, para o melhoramento genético, a variabilidade genética disponível nas populações segregantes pode ser explorada para selecionar linhagens superiores (Oliveira et al., 2012).

Devido à importância que representam as populações segregantes para o melhoramento do mamoeiro, diversos estudos foram realizados para quantificar a variabilidade genética e selecionar indivíduos superiores nestas populações. Muthulakshmi et al. (2007) avaliaram progênies F₁ e F₂ derivadas do cruzamento intergenérico entre *C. papaya* (variedade C0-2) e *Vasconcellea cundinamarcensis*. As progênies F₁ apresentaram variabilidade genética para características morfológicas. Em F₂ foi observada expressiva variabilidade genética para características morfológicas como altura da planta, comprimento do pecíolo e número de folhas por planta.

Karunakaran et al. (2010) avaliaram gerações segregantes S₂, S₃ e S₄. A variabilidade genética foi maior na geração S₂, enquanto que na geração S₄ foi menor. Foi registrada elevada herdabilidade para todas as características, exceto para espessura da polpa. Pouca diferença entre as magnitudes de herdabilidade foi observada entre as gerações S₃ e S₄. Elevados ganhos genéticos foram estimados para massa do fruto, comprimento do fruto e número de sementes, enquanto as restantes características apresentaram de moderada a baixa magnitude. O estudo revelou que o avanço das gerações de autofecundação reduziu a variabilidade das características morfológicas e de rendimento.

Oliveira et al. (2012) estimaram parâmetros genéticos e valores genotípicos em duas populações segregantes F₂ dos híbridos 'Tainung-01' e 'UENF/Caliman-01'. Estes autores obtiveram estimativas de herdabilidade individual elevadas para comprimento e massa do fruto, moderadas para diâmetro do fruto e baixas para teor de sólidos solúveis e firmeza do fruto. Indivíduos da população 'UENF/Caliman-01' apresentaram melhor desempenho em relação à firmeza do fruto, porém inferior em relação a teor de sólidos solúveis. Foi demonstrado que populações segregantes do híbrido 'UENF/Caliman-01' são mais promissoras para seleção de linhagens de mamoeiro.

Sudha et al. (2013) avaliaram três populações F₂ intergenéricas de *Carica papaya* (PVA Nanha, CP 50 e CO 7) e *Vasconcellea cauliflora* para resistência ao vírus do mosaico do mamoeiro (PRSV). Entre os cruzamentos, Pusa Nanha x *V. cauliflora* registrou desempenho médio superior para a produção de frutos, número de frutos e características bioquímicas de frutos. Dentre os diversos caracteres estudados, elevadas magnitudes de herdabilidade e expressivos ganhos genéticos foram obtidos na população Pusa Nanha x *V. cauliflora* para todas as características morfoagronômicas.

3.1.2.6 Análise da dissimilaridade genética no mamoeiro

No mamoeiro os plantios comerciais são estabelecidos por um número reduzido de cultivares, sendo no Brasil, constituídos principalmente pelas variedades 'Sunrise Solo', 'Golden', 'Golden THB' e pelos híbridos 'Tainung' e 'UENF/Caliman-01', evidenciando-se, assim, a necessidade de desenvolvimento de novas cultivares. A existência de variabilidade genética dentro ou entre grupos

de genótipos é fundamental para o sucesso dos programas de melhoramento (Cruz et al., 2014) que visam o desenvolvimento de cultivares. Portanto, a quantificação da diversidade genética nas populações de trabalho é fundamental para os melhoristas. Em estudos de diversidade genética, as medidas de dissimilaridade são de grande importância em avaliações de bancos de germoplasma para entendimento da organização dos acessos e eliminação de duplicatas, também na escolha de genitores divergentes, que proporcionem populações segregantes com ampla variabilidade genética e indivíduos transgressivos (Cruz et al., 2014). Essa variabilidade genética disponível em populações segregantes é essencial para programas de melhoramento, que visam o desenvolvimento de linhagens superiores que possam ser utilizadas como cultivares ou genitores de híbridos.

A distância genética pode ser determinada a partir de características morfoagronômicas, morfológicas e moleculares por meio da análise multivariada (Kim e Ward, 1997; Bered et al., 2002). Por tratar-se de uma análise unificadora que permite integrar as múltiplas informações geradas nas mensurações das características nos indivíduos, a estatística multivariada proporciona maior oportunidade de identificar indivíduos divergentes em programas de melhoramento genético (Jonhson e Wickern, 1988). Entre as técnicas de estatísticas multivariadas, encontram-se as variáveis canônicas, componentes principais, métodos aglomerativos, tais como o método de ligação média entre grupos, vizinho mais próximo, Tocher, entre outros. A escolha do método depende da precisão desejada pelo pesquisador, da facilidade da análise e da forma como os dados são obtidos (Cruz et al., 2014).

No mamoeiro, alguns estudos de diversidade genética em acessos de bancos de germoplasma têm sido aplicados ao melhoramento genético da cultura. A avaliação da divergência genética entre acessos do Banco de germoplasma UENF/Caliman determinada a partir de características morfoagronômicas, revelou expressiva variabilidade genética utilizando redes neurais artificiais (Barbosa et al., 2011) e análises multivariadas (Quintal et al., 2012). Na Índia, foi verificada ampla variabilidade genética entre acessos de um banco de germoplasma baseada em marcadores de DNA (RAPD e ISSR) e características morfoagronômicas (Saran et al., 2015).

Estudos de diversidade genética também foram conduzidos em populações segregantes de mamoeiro para quantificar a variabilidade genética entre indivíduos. Ramos et al. (2012) avaliaram a distância genética entre progênies segregantes derivadas de retrocruzamento com base em marcadores de DNA (RAPD e ISSR) e características morfoagronômicas. Os autores verificaram expressiva variabilidade genética entre as progênies para todas as características avaliadas, com exceção da produção. No México, um estudo realizado para avaliar a dissimilaridade entre indivíduos de populações F_2 segregantes revelou expressiva variabilidade genética para características como altura da planta e produção (Vásquez et al., 2014).

3.1.2.7 Procedimento REML/Blup no melhoramento de fruteiras

A experimentação em campo está associada a desbalanceamento de dados devido a diferentes motivos, tais quais, perdas de plantas e parcelas, quantidades desiguais de sementes e mudas disponíveis por tratamento, rede experimental com diferentes números de repetições por experimento e diferentes delineamentos experimentais, dentre outros (Resende, 2006). Além disso, a avaliação e seleção de indivíduos em fruteiras apresenta uma série de particularidades. Dentre os referidos aspectos, citam-se: utilização dos indivíduos selecionados por vários anos, o que demanda rigor e precisão nos métodos de seleção; uso de avaliações repetidas ao longo do tempo; seleção envolvendo comparações de indivíduos de diferentes gerações, fato que requer a utilização de métodos mais elaborados; relevância da unidade de seleção de indivíduos em detrimento da unidade de seleção média de grupos de indivíduos, fato que demanda a predição de valores genéticos individuais para fins de seleção (Resende, 2002).

Em função disso, o procedimento ótimo de avaliação genotípica refere-se ao REML/BLUP (máxima verossimilhança restrita/melhor predição linear não viciada), também denominado de metodologia de modelos mistos (Resende, 2006). Este procedimento proporciona estimações e predições mais precisas de parâmetros genéticos e valores genéticos, por apresentar grande flexibilidade de análise permitindo contornar dificuldades causadas por desbalanceamentos experimentais (Resende, 2006).

O procedimento BLUP é ótimo para seleção, considerando efeitos aditivos, de dominância e genotípicos. Este procedimento maximiza a acurácia seletiva, sendo superior a qualquer outro índice de seleção combinada, exceto aquele que usa todos os efeitos aleatórios (índice multiefeitos, conforme Resende e Higa, 1994) o qual é o próprio BLUP para dados desbalanceados (Resende e Fernandes, 1999). O BLUP permite o uso simultâneo de várias fontes de informação, tais quais advindas de vários experimentos ou locais, e avaliados em uma ou várias colheitas. O BLUP individual utiliza todos os efeitos do modelo estatístico, considera o desbalanceamento, utiliza o parentesco genético entre os indivíduos em avaliação, e a coincidência entre unidade de seleção e unidade de recombinação. A predição pelo BLUP assume que os componentes de variância são conhecidos. Entretanto, na prática, são necessárias estimativas fidedignas dos componentes de variância, de forma a obter o que se denomina de BLUP empírico (Harville e Carriquiry, 1992). O procedimento recomendado para estimação dos componentes de variância é o da máxima verossimilhança restrita (REML).

O método REML desenvolvido por Patterson e Thompson (1971), consiste em estimar os componentes de variância pela máxima verossimilhança restrita sem considerar os efeitos fixos e dividindo a função de verossimilhança em duas partes, uma para os efeitos fixos e outra para efeitos aleatórios de maneira independente. Este método requer solução iterativa devido à não linearidade das equações do modelo misto, interagindo até a convergência para um valor adequado para a solução do sistema. Na situação de parcelas perdidas, o método REML permite a predição de predições mais acuradas dos efeitos dos tratamentos. As predições dos efeitos aleatórios são analisadas em direção à média geral (denominado efeito *Shrinkage*), havendo melhor discriminação genética e penalizando estimativas baseadas em pequenas amostras. Além disso, permite o ajuste de diferentes variâncias de cada grupo de tratamento, isto é, considera heterogeneidade de variâncias, permite a modelagem da estrutura de correlação em experimentos com dependência espacial, medidas repetidas e em múltiplos experimentos (Resende, 2004).

O procedimento REML/BLUP está associado a um modelo misto. Em experimentos de campo, para efeitos de modelo misto pelo REML/BLUP os efeitos identificáveis do modelo devem ser discriminados em fixos e aleatórios,

respectivamente, efeitos de ambientes (blocos, locais, anos) e efeitos de tratamento. Inferências sobre tratamentos podem ser extrapolados para toda a população de efeitos ambientais (blocos, locais, anos), visto que, a interação tratamentos \times ambientes é considerada como efeito aleatório. Os efeitos de tratamentos (genótipos) devem de preferência, ser considerados aleatórios, já que permite selecionar com base no valor genético, caso contrário a seleção seria apenas fenotípica. Isto é devido ao fato dos efeitos residuais ambientais compostos no valor fenotípico serem eliminados por meio do *shrinkage* ou pelo produto do valor fenotípico corrigido por uma função da característica em seleção (Resende, 2004).

De acordo com Resende (2004), as principais vantagens do procedimento REML/BLUP são:

- a) permite comparar indivíduos através do tempo (gerações, anos) e espaço (locais e blocos);
- b) permite a simultânea correção para os efeitos ambientais, estimação dos componentes de variância e predição dos valores genéticos;
- c) permite lidar com estruturas mais complexas de dados (medidas repetidas, diferentes anos, locais e delineamentos);
- d) pode ser aplicado a dados desbalanceados e a delineamentos não ortogonais.

O procedimento REML/BLUP tem sido aplicado em um grande número de fruteiras, entre elas citam-se: aceroleira (Paiva et al., 2007); cajueiro (Cavalcanti et al., 2007); cacauzeiro (Resende e Dias, 2000); citrus (Pompeu Júnior et al., 2012); coqueiro (Farias Neto et al., 2009); cupuaçuzeiro (Maia et al., 2011), macieira (Kouassi et al., 2009); mangueira (Hardner et al., 2012); maracujazeiro (Ferreira et al., 2016); pessegueiro (Della Bruna et al., 2012). No mamoeiro, o procedimento REML/BLUP foi aplicado com sucesso no melhoramento da cultura (Oliveira et al., 2012; Pinto et al., 2013; Ramos et al., 2014a).

3.1.3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1.3.1 Material Genético

Foi avaliada uma população de 294 plantas F₂ derivada do cruzamento entre as linhagens Sekati e JS12. Ambos os genitores pertencem ao mesmo grupo heterótico, grupo Formosa, porém, são contrastantes para características agronômicas e sensoriais. Por exemplo, o genitor Sekati possui frutos grandes, ótima firmeza de polpa e teor de sólidos solúveis mediano. Por sua vez, o genitor JS12 diverge do Sekati em relação às duas últimas características, apresentando moderada firmeza de polpa e elevado teor de sólidos solúveis. Assim, o genitor Sekati foi utilizado como fonte de firmeza de polpa, enquanto que JS12 como fonte de sabor. Em estudos de herança da resistência a doenças fúngicas o genitor Sekati teve destaque por ser portador de alelos de resistência à mancha de phoma, pinta preta e oídio (Vivas et al., 2013). Também foram avaliadas quatro testemunhas, sendo elas os parentais Sekati, JS12, a variedade 'Golden' e o híbrido 'UENF/Caliman-01'.

3.1.3.2 Local de condução do experimento

O experimento foi conduzido na área experimental da empresa Caliman Agrícola S.A, localizada no município de Linhares, Espírito Santo. Situada entre os paralelos 19° 06' e 19° 18' de latitude sul e entre os meridianos 39° 45' e 40° 10' de longitude oeste. O clima da região é do tipo Awi de Koppen (tropical úmido), com chuvas no verão e inverno seco, o relevo é plano formando platôs litorâneos. No período de condução do experimento (ano de 2012), a precipitação anual foi de 1142 mm, a temperatura média de 24,5 °C e a umidade relativa média do ar de 79,67% (Tabela 1) (INMET, 2012). As plantas foram transplantadas mantendo um espaçamento de 3,60 m entre fileira e de 1,50 m entre plantas na fileira. Foram plantadas três mudas por cova, sendo realizada a sexagem das plantas após três meses de plantio mantendo apenas as plantas hermafroditas. Os tratos culturais utilizados foram os mesmos empregados pela empresa Caliman Agrícola S/A nas lavouras comerciais.

Tabela 1. Variáveis climáticas observadas no ano 2012, em Linhares, ES

Mês	Precipitação (mm)	T _{max} (°C)	T _m (°C)	T _{min} (°C)	UR (%)
Jan	122,5	31,19	26	22,59	81,04
Fev	103	32,1	26,13	21,97	77,11
Mar	36,8	32,36	26,28	21,92	76,86
Abr	48,5	31,97	25,98	21,99	78,96
Mai	55,5	28,6	23,31	19,74	82,29
Jun	36,4	29,88	23,56	19,71	82,34
Jul	114,9	28,06	22,16	17,97	82,39
Ago	252,7	26,99	22,12	18,53	81,22
Set	42,1	28,17	22,89	19,07	77,38
Out	51,7	29,93	24,3	19,78	75,89
Nov	265,6	29,07	24,82	21,26	84,09
Dez	12,3	32,79	26,93	22,67	76,48

T_{max}: temperatura máxima média; T_{min}: temperatura mínima média; T_m: temperatura compensada média; UR: umidade relativa média do ar (INMET, 2012).

3.1.3.3 Características avaliadas

Foram avaliadas treze características no presente estudo, sendo elas: Altura da planta (AP) em cm; diâmetro do caule (DC) em mm; número de frutos comerciais (NFC); número de frutos deformados (NFD); número de nós sem fruto (NSF); massa média de fruto (MF), em kg; produção por planta (Prod) em kg; comprimento de fruto (CF) em mm; diâmetro do fruto (DF) em mm, teor de sólidos solúveis (TSS) em °Brix; firmeza do fruto (FF) em N, firmeza da polpa (FP) em N e espessura da polpa (EP) em cm. Foram realizadas duas avaliações, a primeira aos nove meses após o transplântio e a segunda aos doze meses após o transplântio. As características foram mensuradas conforme descrito por Silva et al.(2008) e Ramos et al.(2014a).

3.1.3.4 Análise estatística

Inicialmente, as características foram analisadas utilizando a metodologia dos modelos lineares mistos, mediante o procedimento REML (máxima verossimilhança restrita) para estimar os componentes de variância e parâmetros genéticos e pelo Blup (melhor preditor linear não viciado) para estimar os valores

fenotípicos permanentes. A avaliação genética foi realizada empregando o seguinte modelo estatístico:

$$y = Xm + Wp + \varepsilon$$

Em que:

y é o vetor de observações;

m o vetor dos efeitos de medição (assumidos como fixos) somados à média geral;

p o vetor dos efeitos permanentes de plantas (efeitos genotípicos + efeitos de ambiente permanente, assumidos como aleatórios);

ε é o vetor dos resíduos (aleatórios).

X e W representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

As distribuições e estruturas de variâncias associadas aos termos do modelo foram:

$$y | m, V \sim N(Xm, V)$$

$$p | I\sigma_p^2 \sim N(0, I\sigma_p^2)$$

$$\varepsilon | \sigma_\varepsilon^2 \sim N(0, I\sigma_\varepsilon^2)$$

$$V = Z\sigma_p^2 Z' + I\sigma_\varepsilon^2$$

Este é um modelo básico de repetibilidade para experimentos sem delineamento experimental, sendo apropriado para as condições experimentais adotadas no estudo. O referido modelo foi analisado utilizando o *software* Selegen-REML/Blup conforme apresentado por Resende (2016).

3.1.3.4.1 Componentes de Variância (REML individual) e parâmetros genéticos associados à repetibilidade

Foram estimados os seguintes componentes de variância e parâmetros genéticos:

Vfp: Variância fenotípica permanente entre plantas (variância genotípica + variância ambiental permanente de uma medida para outra);

Vet: Variância de ambiente temporário;

Variância fenotípica individual:

$$Vf = Vfp + Vet$$

Repetibilidade individual:

$$\rho = \frac{Vfp}{Vfp + Vet}$$

Repetibilidade da média de m medidas repetidas:

$$\rho_m = \frac{Vfp}{Vfp + Vet/2}$$

Acurácia da seleção baseada na média de m medidas repetidas

$$Acm = \sqrt{\rho_m}$$

Os valores fenotípicos permanentes foram obtidos por meio da expressão:

$$fp = MG + \rho_m(MGi - MG)$$

Em que:

MG: Média geral do experimento;

ρ_m : repetibilidade na média de m medidas repetidas;

MGi: Média geral do indivíduo i nas várias medições.

3.1.3.4.2 Seleção de indivíduos superiores

Foi realizada a seleção combinada dos 25 indivíduos superiores utilizando o índice de pesos (IVF) desenvolvido para a seleção de progênies no mamoeiro conforme Silva et al. (2008) e Ramos et al. (2014a). Trata-se de um índice paramétrico que associa pesos às médias padronizadas das características em

seleção, sendo utilizados no presente estudo, os valores fenotípicos permanentes. O estimador do índice expresso por:

$$IVF = \sum_{i=1}^n (fpi \times pi)$$

Em que:

fpi: valor fenotípico permanente padronizado da característica i;

p: peso econômico atribuído à característica i com sinal positivo ou negativo conforme o sentido da seleção.

Os pesos atribuídos às treze características foram os seguintes: AP (1), DC (5), NFC (100), NFD (-20), NSF (-20), MF (1), CF (1), DF (1), TSS (100), FF (100), FP (100) e EP (70). Esta relação de pesos foi estabelecida experimentalmente, com base na importância agrônômica, conforme descrito por Silva et al. (2008).

Os procedimentos para a construção do índice foram realizados utilizando os recursos computacionais do *software* Selegen REML/BLUP e do *software* SAS *Studio* 3.5 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

3.1.3.4.3 Estimação da distância genética entre indivíduos F₂ baseada em características quantitativas

Para determinar as distâncias genéticas entre indivíduos foram realizadas duas análises, a primeira utilizando as médias fenotípicas e a segunda empregando os valores fenotípicos permanentes dos indivíduos. Estes foram obtidos via REML/Blup conforme explicado no tópico 3.1.3.4. A análise de divergência foi realizada empregando como método de dissimilaridade a distância euclidiana média padronizada, pelo qual foi obtida a matriz de distância genética. Empregando a matriz de distância genética foi realizado o agrupamento hierárquico, com base nos métodos UPGMA (ligação média entre grupos) e Vizinheiro Mais Próximo (Saitou e Nei, 1987). O ajuste entre a matriz de distância genética e a matriz de agrupamento foi realizado por meio do coeficiente de correlação cofenética (CCC) (Sokal e Rohlf, 1962). Também foi estimada a contribuição relativa de cada característica à diversidade genética pela metodologia proposta por Singh (1981).

A matriz de distância genética, o CCC e a contribuição relativa foram estimados utilizando o programa Genes (Cruz, 2013). Os agrupamentos hierárquicos foram realizados com auxílio do programa MEGA versão 7 (Kumar et al., 2016).

3.1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1.4.1 Estimativas de repetibilidade

Na tabela 2 encontram-se os resultados das estimativas de repetibilidade para as treze características avaliadas. Observa-se que a variância de ambiente temporário (Vet) representou a maior porcentagem de variância fenotípica individual (Vf) nas características número de frutos comerciais (NFC), número de frutos deformados (NFD), número de nós sem fruto (NSF), massa média do fruto (MF), produção (Prod), diâmetro do fruto (DF), firmeza do fruto (FF), firmeza da polpa (FP) e teor de sólidos solúveis (TSS). De acordo com Viana e Resende (2014), a Vet representa a variação ambiental temporária associada aos efeitos ambientais efêmeros que se manifestam em cada medição, tais quais os efeitos das flutuações climáticas ano a ano e suas interações com os efeitos de plantas.

Verifica-se que a repetibilidade individual (ρ), apresentou elevada magnitude nas características altura da planta (AP) e diâmetro do caule (DC). A magnitude de ρ estimada nestas características foi de 0,75 (AP) e 0,83 (DC). Por sua vez, as características número de frutos deformados (NFD), massa do fruto (MF), comprimento do fruto (CF) e espessura da polpa (EP) apresentaram coeficiente ρ de magnitudes intermediárias, variando de 0,30 a 0,50. Já baixas magnitudes ($0,12 \leq \rho \leq 0,28$) foram obtidas nas características NFC, Prod, FP, NSF, TSS, DF, FF.

Tabela 2. Estimativas de repetibilidade para treze características morfoagronômicas avaliadas via REML em população F₂ de mamoeiro. Linhares, ES, 2013

Característica	Vfp	Vet	Vf	ρ	ρ_m	Acm	Média
AP	456,62	154,47	611,09	0,75 +- 0,10	0,86	0,92	199,32
DC	148,17	30,34	178,50	0,83 +- 0,10	0,91	0,95	108,95
NFC	5,26	38,64	43,90	0,12 +- 0,04	0,21	0,46	12,92
NFD	0,74	1,74	2,48	0,30 +- 0,06	0,46	0,68	0,88
NSF	12,95	59,29	72,24	0,18 +- 0,05	0,30	0,55	22,48
Prod	37,43	186,10	223,53	0,17 +- 0,11	0,29	0,54	21,24
MF	0,13	0,14	0,27	0,49 +- 0,09	0,66	0,81	1,68
DF	44,82	128,83	173,66	0,26 +- 0,07	0,41	0,64	109,51
CF	607,83	599,49	1207,33	0,50 +- 0,10	0,67	0,82	265,75
FF	115,72	294,00	409,72	0,28 +- 0,07	0,44	0,66	111,97
FP	41,21	198,25	239,46	0,17 +- 0,06	0,29	0,54	78,40
TSS	0,29	0,99	1,28	0,22 +- 0,06	0,37	0,61	9,38
EP	0,05	0,05	0,10	0,51 +- 0,10	0,67	0,82	2,96

AP: Altura da planta, em cm; DC: diâmetro do caule, em mm; NFC: número de frutos comerciais; NFD: número de frutos deformados; NSF: número de nós sem fruto; Prod: produção por planta, em kg; MF: massa média de fruto, em kg; CF: comprimento de fruto, em mm; DF: diâmetro do fruto, em mm; TSS: teor de sólidos solúveis, em °Brix; FF: firmeza do fruto, em N, FP: firmeza da polpa, em N; EP: espessura da polpa, em cm. Vfp: variância fenotípica permanente entre plantas (genotípica + ambiental permanente de uma medida para outra); Vet: variância de ambiente temporário; Vf: variância fenotípica individual; ρ = repetibilidade individual; ρ_m = repetibilidade da média de m medidas repetidas; Acm: acurácia da seleção baseada na média de m medidas repetidas; Média geral do experimento.

Observa-se que o coeficiente de repetibilidade com base na média das duas medidas (ρ_m) apresentou magnitude elevada para as características AP, DC, MF, CF e EP. Estas magnitudes indicam que a expressão destas características apresentou alta regularidade nas mensurações realizadas. Além disso, elevadas magnitudes de ρ_m indicam que realizando duas medidas é possível prever o valor real dos indivíduos, portanto, haverá pouco ganho em acurácia com o aumento de medidas repetidas. Também, características com elevada repetibilidade demandam menor custo, tempo e mão de obra nas avaliações, aprimorando o processo de fenotipagem das populações de melhoramento. Por sua vez, as características TSS, DF, FF e NFD apresentaram magnitudes intermediárias ($0,37 \leq \rho_m \leq 0,46$), mostrando certa regularidade entre medidas e evidências de efeitos ambientais na expressão destas características. Já as características NFC, Prod, FP e NSF apresentaram estimativas de baixa

magnitude ($0,21 \leq pm \leq 0,30$), indicando que um número maior de medidas repetidas é necessário para aumentar o ganho em acurácia na estimação real dos indivíduos. De acordo com Cruz et al. (2014), a repetibilidade varia com a natureza da característica, com as propriedades genéticas da população e com as condições de ambiente sob as quais os indivíduos são mantidos. No caso de NFC em certos genótipos observa-se maior precocidade e uniformidade nas médias de uma medida para outra, porém, em determinados genótipos a média da característica varia grandemente entre avaliações, podendo inclusive não apresentar frutos comerciais na primeira avaliação. Também, a baixa magnitude pode ser explicada pela natureza quantitativa das características, sendo muito influenciadas pelas condições ambientais que afetam os indivíduos, resultando numa variação na expressão das mesmas de uma medida para outra. A produção de frutos comerciais é afetada por anomalias florais, por exemplo, a esterilidade de verão que diminui a produção de frutos comerciais e no inverno um incremento na taxa de frutos carpelóides (deformados) também pode afetar o NFC. Além disso, a estrutura genética da população avaliada, a qual é formada por plantas F_2 que ainda se encontram segregando para as características pode contribuir para a baixa repetibilidade observada nesta característica.

No mamoeiro, Luz et al. (2015), realizando oito mensurações para avaliar NFC, MF e Prod em híbridos, estimaram coeficientes de repetibilidade por quatro métodos. Estes autores encontraram como resultados que para NFC, o coeficiente de repetibilidade variou de 0,41 pelo método da análise de variância (ANOVA) a 0,69 pelo método dos componentes principais com base na matriz de covariância (CPCOV), sendo considerada de magnitude intermediária e elevada, respectivamente. Para MF o coeficiente variou de 0,85 pelo ANOVA a 0,93 pelo CPCOV, sendo considerados de elevada magnitude. A Prod apresentou magnitudes variando de 0,39 via ANOVA a 0,81 via CPCOV, sendo considerada de magnitude moderada e elevada, respectivamente. A elevada magnitude de pm encontrada no presente estudo para a característica MF concorda com a estimada por Luz et al. (2015), mostrando que a mesma apresenta regularidade na expressão, ressaltando que duas mensurações são necessárias para estimar o valor real. Já as diferenças encontradas para NFC e Prod podem ser devido a natureza da característica, e também à estrutura genética dos genótipos avaliados nos dois estudos. Desta forma, híbridos simples ou triplos são mais

uniformes geneticamente do que indivíduos de população F_2 onde há maior heterogeneidade genética.

Em relação às características mensuradas nos frutos, não há estudos de repetibilidade no mamoeiro. No entanto, estudos de repetibilidade destas características em fruteiras apresentaram magnitudes similares às obtidas no presente estudo. Em trabalhos realizados com aceroleira (Lopez et al., 2001), pitangueira (Danner et al., 2010) e pessegueiro (Pires et al., 2015), características de fruto como teor de sólidos solúveis e firmeza do fruto também apresentaram coeficientes de repetibilidade de magnitude intermediárias. Da mesma forma, para características como comprimento de fruto e massa de frutos, os autores também encontraram coeficientes de repetibilidade de elevada magnitude.

As estimativas dos coeficientes de determinação (R^2) e acurácia (Ac) obtidos com a realização de m medidas repetidas, encontram-se na Tabela 3. Também é apresentada, a eficiência da realização de m medidas em comparação com a situação em que apenas se usa uma medição. O nível adequado de confiabilidade ou determinação a ser adotado depende da finalidade da seleção. Quando indivíduos são selecionados para compor uma população de melhoramento como no caso do presente estudo, uma determinação acima de 80% (acurácia acima de 89%) já é adequada (Viana e Resende, 2014).

Verifica-se que a utilização de duas medições é suficiente para estimar o valor real dos indivíduos nas características AP e DC, com confiabilidade acima de 81% e acurácia seletiva acima de 90%. Esses resultados são muito importantes para o melhoramento desta população, uma vez que possibilita a economia de tempo e recurso na seleção de indivíduos superiores. Já para estimar as características CF, EP e MF são necessárias quatro e cinco mensurações para estimar o valor real dos indivíduos com confiabilidade de 81% e acurácia de 90%. De outro modo, nas demais características, mais de dez mensurações são necessárias para estimar o valor real dos indivíduos, fato que na prática é inconcebível de realizar pelo ciclo de vida da planta.

De maneira geral, o uso de duas mensurações possibilitou um aumento da eficiência seletiva (Ef), variando de 5% no diâmetro do caule a 34% no número de frutos comerciais. De posse dos valores de Ef , verifica-se que em características com elevada repetibilidade como altura da planta e diâmetro do caule, a seleção dos indivíduos superiores pode ser efetuada em duas

mensurações atingindo o máximo possível de determinação. Por outro lado, em características com repetibilidade baixa e intermediária, a seleção de indivíduos baseada em maior número de mensurações é recomendável para aumentar a eficiência em termos de ganho genético com a seleção de indivíduos superiores. Porém, deve ser levado em consideração, o aumento de custos e tempo para determinar o número adequado de mensurações.

Tabela 3. Eficiência no uso de m medidas com diferentes coeficientes de determinação e valores de acurácia

m	AP			DC			NFC			NFD			NSF			PROD		
	R ²	Ac	Ef															
1	0,75	0,86	1,00	0,83	0,91	1,00	0,12	0,35	1,00	0,30	0,55	1,00	0,18	0,42	1,00	0,17	0,41	1,00
2	0,86	0,92	1,07	0,91	0,95	1,05	0,21	0,46	1,34	0,46	0,68	1,24	0,30	0,55	1,30	0,29	0,54	1,31
3	0,90	0,95	1,10	0,94	0,97	1,06	0,29	0,54	1,56	0,56	0,75	1,37	0,40	0,63	1,49	0,38	0,61	1,50
4	0,92	0,96	1,11	0,95	0,98	1,07	0,35	0,59	1,72	0,63	0,79	1,45	0,47	0,68	1,61	0,45	0,67	1,63
5	0,94	0,97	1,12	0,96	0,98	1,08	0,40	0,64	1,84	0,68	0,83	1,51	0,52	0,72	1,71	0,50	0,71	1,73
6	0,95	0,97	1,13	0,97	0,98	1,08	0,45	0,67	1,94	0,72	0,85	1,55	0,57	0,75	1,78	0,55	0,74	1,81
7	0,95	0,98	1,13	0,97	0,99	1,08	0,49	0,70	2,02	0,75	0,87	1,58	0,60	0,78	1,84	0,58	0,76	1,87
8	0,96	0,98	1,13	0,98	0,99	1,08	0,52	0,72	2,09	0,77	0,88	1,61	0,64	0,80	1,88	0,62	0,79	1,92
9	0,96	0,98	1,14	0,98	0,99	1,09	0,55	0,74	2,14	0,79	0,89	1,63	0,66	0,81	1,92	0,64	0,80	1,96
10	0,97	0,98	1,14	0,98	0,99	1,09	0,58	0,76	2,19	0,81	0,90	1,64	0,69	0,83	1,96	0,67	0,82	2,00

m= número de medidas; Acm= acurácia da seleção baseada na média de m colheita ou medidas repetidas; Det= coeficiente de determinação; Efi=Eficiência.

Tabela 3. Cont.

m	MF			DF			CF			FF			FP			TSS			EP		
	R ²	Ac	Ef																		
1	0,49	0,70	1,00	0,26	0,51	1,00	0,50	0,71	1,00	0,28	0,53	1,00	0,17	0,41	1,00	0,22	0,47	1,00	0,51	0,71	1,00
2	0,66	0,81	1,16	0,41	0,64	1,26	0,67	0,82	1,15	0,44	0,66	1,25	0,29	0,54	1,31	0,37	0,61	1,28	0,67	0,82	1,15
3	0,74	0,86	1,23	0,51	0,71	1,41	0,75	0,87	1,22	0,54	0,74	1,38	0,38	0,62	1,49	0,46	0,68	1,44	0,76	0,87	1,22
4	0,79	0,89	1,27	0,58	0,76	1,50	0,81	0,90	1,26	0,61	0,78	1,47	0,45	0,67	1,62	0,54	0,73	1,55	0,81	0,90	1,26
5	0,83	0,91	1,30	0,63	0,80	1,57	0,84	0,91	1,29	0,66	0,81	1,53	0,51	0,71	1,72	0,59	0,77	1,62	0,84	0,92	1,28
6	0,85	0,92	1,32	0,68	0,82	1,62	0,86	0,93	1,31	0,70	0,84	1,58	0,55	0,74	1,80	0,63	0,80	1,68	0,86	0,93	1,30
7	0,87	0,93	1,33	0,71	0,84	1,66	0,88	0,94	1,32	0,73	0,86	1,61	0,59	0,77	1,86	0,67	0,82	1,73	0,88	0,94	1,31
8	0,88	0,94	1,35	0,74	0,86	1,69	0,89	0,94	1,33	0,76	0,87	1,64	0,62	0,79	1,90	0,70	0,84	1,76	0,89	0,94	1,32
9	0,90	0,95	1,35	0,76	0,87	1,71	0,90	0,95	1,34	0,78	0,88	1,66	0,65	0,81	1,95	0,72	0,85	1,79	0,90	0,95	1,33
10	0,91	0,95	1,36	0,78	0,88	1,73	0,91	0,95	1,34	0,80	0,89	1,68	0,68	0,82	1,98	0,74	0,86	1,82	0,91	0,96	1,34

m= número de medidas; Acm= acurácia da seleção baseada na média de m colheita ou medidas repetidas; Det= coeficiente de determinação; Efi=Eficiência

3.1.4.2 Seleção combinada e identificação dos indivíduos superiores

Com base no índice de seleção foram selecionados 25 indivíduos superiores para as 13 características avaliadas na população F₂. O ordenamento destes indivíduos superiores, em termos de valor fenotípico permanente, encontra-se na tabela 4. Ressalta-se que são apresentados os resultados obtidos para produção, firmeza do fruto, firmeza da polpa e teor de sólidos solúveis devido a sua importância para o melhoramento genético da cultura.

Em estudos de repetibilidade, recomenda-se o uso de valor fenotípico permanente para comparar indivíduos quando não se tem os valores genotípicos. Nesta situação, o valor fenotípico permanente pode ser analisado como o valor esperado de uma produção futura ou capacidade provável de produção (Viana e Resende, 2014). O índice de seleção mostrou-se coerente ao ranquear os indivíduos em relação a todas as características avaliadas, sendo a seleção baseada principalmente nas características ligadas ao rendimento e qualidade de frutos, nas quais foram atribuídos os maiores pesos econômicos.

Verifica-se que a média dos valores fenotípicos permanentes dos indivíduos selecionados pelo índice foi de 26,02 kg para produção, sendo superior à média geral (21,24 kg) (Tabela 1). Quanto à produção, destacou-se o indivíduo 39S com valor fenotípico de 39,28 kg. Em relação à firmeza do fruto, a média dos valores fenotípicos permanentes dos indivíduos selecionados foi de 116,47 N sendo ligeiramente superior à média geral (111,97 N). Para a firmeza do fruto, o indivíduo 48S com 136,59 N apresentou o maior valor fenotípico permanente. Em relação à firmeza da polpa, a média dos valores fenotípicos permanentes dos indivíduos selecionados foi de 80,75 N, sendo superior à média geral (78,40 N), com destaque para o indivíduo 105 com valor fenotípico permanente de 89,64 N. Por sua vez, a média dos valores fenotípicos permanentes para os indivíduos selecionados para teor de sólidos solúveis foi de 9,4 °Brix enquanto a média geral foi de 9,38 °Brix.

Tabela 4. Efeitos fenotípicos permanentes (fp), valores fenotípicos permanentes (u+fp), em quatro características de importância no melhoramento do mamoeiro para os indivíduos selecionados pelo índice IVF.

Ordem	Indivíduo	PROD		FF		FP		TSS	
		fp	u + fp						
1	145	12,80	34,04	7,17	119,14	6,55	84,95	0,02	9,40
2	47	10,77	32,01	-0,22	111,75	1,40	79,80	0,03	9,41
3	89S	10,02	31,26	3,31	115,28	2,04	80,44	-0,37	9,02
4	201	4,13	25,37	17,88	129,85	5,08	83,48	0,13	9,52
5	48S	1,80	23,04	24,62	136,59	5,78	84,18	-0,20	9,19
6	43	12,50	33,74	-0,37	111,60	1,90	80,30	-0,53	8,85
7	39S	18,04	39,28	-5,72	106,25	-0,75	77,65	-0,39	8,99
8	87S	7,80	29,04	0,87	112,84	2,19	80,59	0,02	9,41
9	65	0,01	21,25	11,07	123,04	3,40	81,80	0,24	9,63
10	143	9,92	31,16	-1,74	110,23	4,29	82,69	-0,46	8,92
11	79	5,54	26,78	9,93	121,90	4,40	82,80	-0,24	9,15
12	98	2,95	24,19	3,56	115,53	0,53	78,93	-0,03	9,36
13	211	-1,18	20,06	12,27	124,24	5,22	83,62	0,55	9,93
14	101	2,26	23,50	3,61	115,58	1,57	79,97	0,71	10,10
15	88	4,42	25,66	-2,82	109,15	-0,36	78,04	0,10	9,49
16	379	0,96	22,20	7,53	119,50	-2,49	75,91	0,42	9,81
17	23	3,21	24,45	11,12	123,09	5,53	83,93	-0,71	8,67
18	141	4,19	25,43	3,66	115,63	1,16	79,56	-0,06	9,32
19	149	3,25	24,49	6,99	118,96	0,49	78,89	-0,49	8,89
20	183	3,27	24,51	3,16	115,13	-2,94	75,46	0,11	9,50
21	71S	-1,29	19,95	7,32	119,29	1,91	80,31	-0,01	9,37
22	106	-1,81	19,43	1,22	113,19	2,04	80,44	0,53	9,91
23	105	-1,78	19,46	9,15	121,12	11,24	89,64	-0,25	9,14
24	25	7,01	28,25	-5,34	106,63	0,14	78,54	0,00	9,38
25	189	0,61	21,85	2,07	114,04	4,49	82,89	0,15	9,53

Prod: produção; FF: firmeza do fruto; FP: firmeza da polpa; TSS: Teor de sólidos solúveis.

Verifica-se que o maior aumento na média com a seleção dos indivíduos superiores foi na firmeza do fruto, seguido de produção e os menores para o teor de sólidos solúveis. Além dos indivíduos selecionados pelo índice, foi realizada também a seleção direta para firmeza do fruto, firmeza da polpa, teor de sólidos solúveis e espessura da polpa, visando manter na população de melhoramento indivíduos fontes destas características. Na tabela 5 encontram-se os valores fenotípicos permanentes dos indivíduos superiores para cada característica citada. O indivíduo 3 com valor fenotípico de 10,24^obrix e de 81,51N foi selecionado para teor de sólidos solúveis e firmeza da polpa. Por sua vez, os indivíduos 9 e 322 com valores fenotípicos permanentes de 114,76N e 120,42N foram selecionados para firmeza do fruto. Já os indivíduos 333 e 23S com valor fenotípico permanente de 3,11 e 3,06 cm foram selecionados para espessura da polpa.

Tabela 5. Efeitos fenotípicos permanentes (fp), valores fenotípicos permanentes (u+fp), em quatro características de importância para o melhoramento do mamoeiro para os indivíduos identificados pela seleção direta.

Indivíduo	FF		FP		TSS		EP	
	fp	u+ fp	fp	u + fp	fp	u + fp	fp	u + fp
9	2,79	114,76	0,10	78,50	0,18	9,57	-0,14	2,82
3	-0,39	111,58	3,11	81,51	0,86	10,24	-0,57	2,39
322	8,45	120,42	0,55	78,95	0,02	9,40	-0,18	2,79
333	-3,96	108,01	1,03	79,43	-0,02	9,36	0,15	3,11
23S	-2,31	109,66	0,98	79,38	0,05	9,44	0,10	3,06

FF: firmeza do fruto; FP: firmeza da polpa; TSS: Teor de sólidos solúveis; EP: espessura da polpa.

Com base no ranque do índice foi realizada a seleção simultânea de 25 indivíduos superiores para o conjunto de características avaliadas. Resultados favoráveis têm sido encontrados usando este índice para selecionar genótipos promissores no programa de melhoramento genético de mamoeiro da Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro (Silva et al., 2008; Pinto et al., 2013; Ramos et al., 2014a). No entanto, a eficiência do índice utilizado na seleção é um caráter inerente à população trabalhada e às condições experimentais estabelecidas neste estudo. Estes resultados demonstram o elevado potencial genético que podem apresentar populações F₂ segregantes

para desenvolver linhagens superiores para as características de interesse no melhoramento genético do mamoeiro. O índice mostrou-se coerente ao ranquear os genótipos com base nas características avaliadas, e ademais, a maioria dos indivíduos selecionados, também apresentaram médias satisfatórias para características de interesse para o melhoramento do mamoeiro, como frutos comerciais, frutos deformados, nós sem fruto, espessura da polpa e diâmetro de caule.

3.1.4.3 Distância genética entre indivíduos F₂

Para a análise de dissimilaridade utilizando-se tanto as médias fenotípicas quanto os valores fenotípicos permanentes o método de ligação média entre grupos (UPGMA) possibilitou agrupamentos mais definidos do que os obtidos pelo Vizinho Mais Próximo. Além disso, os maiores coeficientes de correlação cofenética (CCC) foram obtidos pelo UPGMA, mostrando boa concordância entre os valores originais de dissimilaridade e aqueles representados no dendrograma. Verifica-se que empregando valores fenotípicos permanentes foi obtida maior magnitude do CCC e, portanto foram consideradas neste estudo.

A distância genética média entre indivíduos foi 0,19, a distância máxima foi verificada entre os indivíduos 25 e 78 ($d=0,62$), e a mínima, entre os indivíduos 6 e 94 ($d=0,04$). Estes resultados são diferentes dos obtidos em estudos de divergência no mamoeiro baseados em características morfoagronômicas. Por exemplo, estudos realizados em progênies de mamoeiro derivadas de retrocruzamento revelaram uma distância genética média de 0,35 entre progênies (Ramos et al., 2012). Por sua vez, em avaliação de acessos de um banco de germoplasma na Índia, a distância genética média entre acessos foi estimada em 0,47 (Saran et al., 2015). A baixa distância genética média estimada no presente estudo pode ser explicada pela constituição genética da população F₂. Embora uma população F₂ seja considerada de base genética ampla por apresentar o máximo de desequilíbrio de ligação, a população avaliada neste estudo, foi originada por um cruzamento biparental entre genitores do mesmo grupo heterótico, o grupo Formosa. O interesse no cruzamento entre os dois genitores foi focado em características de qualidade do fruto, como teor de sólidos solúveis e firmeza da polpa e do fruto, sem considerar a divergência genética dos

genitores, reduzindo a possibilidade de originar uma população F_2 de base genética ampla.

A análise de agrupamento permitiu verificar a formação de 21 grupos, com um corte na distância de 0,19 (distância genética média) (Figura 1). Desses, três grupos reuniram um número maior de indivíduos (Grupos I, II e VI). Os grupos XXI e XX foram os mais divergentes sendo o primeiro constituído pelo indivíduo 52 o segundo pelos indivíduos 145, 89S, 47, 23, 43, 143, 87S e 39S, os quais foram os primeiros no ordenamento realizado pelo índice de seleção, mostrando que estes indivíduos que apresentaram valores fenotípicos elevados para as características foram os mais distantes geneticamente da população avaliada. O grupo XIX, formado pelos indivíduos 60 e 355 destaca-se por apresentar plantas baixas (122,92 e 144,73 cm, respectivamente) e baixo número de nós sem fruto (18,84 e 18,39 cm respectivamente). Esse grupo também se destacou por apresentar as menores médias para o diâmetro do caule (68,97 e 68,40 cm, respectivamente). O grupo XVIII representado por oito indivíduos se destaca por apresentar frutos com elevado teor de sólidos solúveis (variando de 9,84 a 10,24 °Brix) e frutos com as menores médias para diâmetro do fruto (variando de 96,14 a 104,87 mm). O grupo XVII representado pelo indivíduo 20 se destaca por apresentar a maior altura de planta (255,93 cm). O grupo XVI constituído por três indivíduos (341, 289, 255) se destaca por apresentar frutos com baixa firmeza do fruto (variando de 91,11 a 96,85 N) e da polpa (variando de 65,28 a 70,22 N). O grupo XV representado por quatro indivíduos (222, 151, 284, 23S, 178) se destaca por apresentar frutos com elevada espessura da polpa (2,84 a 3,10 cm, respectivamente). O grupo XIV foi formado pelos indivíduos 12S e 60S e é caracterizado por apresentar elevado número de nós sem fruto (27,81 e 25,84, respectivamente). Esse grupo também é caracterizado por apresentar baixo número de frutos comerciais (10,80 e 11,12, respectivamente) e baixa produção (17,03 e 17,50 kg, respectivamente). O grupo XIII representado pelo indivíduo 123 se destaca por apresentar a maior média para o diâmetro do caule (141,85 mm) e o menor número de frutos deformados (0,48). O grupo XII representado por 48 indivíduos se destaca por apresentar frutos com boa espessura da polpa (variando de 2,84 a 3,06 cm). O grupo XI formado por quatro indivíduos (29, 186, 246 e 154) apresenta as menores médias para teor de sólidos solúveis (variando de 8,74 a 8,93 °Brix). Por sua vez, o grupo IV formado por seis

representantes se destaca por apresentar elevada firmeza do fruto (variando de 115,93 a 135,59 N) e boa firmeza da polpa (variando de 80,72 a 84,18 N). Por outro lado, os representantes dos grupos X, IX, VIII, VII, VI, V, III, II e I, foram divergentes, em relação à produção, teor de sólidos solúveis e firmeza do fruto e da polpa. Com base nestas descrições dos grupos, verifica-se que as características como altura da planta, diâmetro do caule, produção, comprimento e diâmetro do fruto, foram as que mais contribuíram para distinção dos indivíduos.

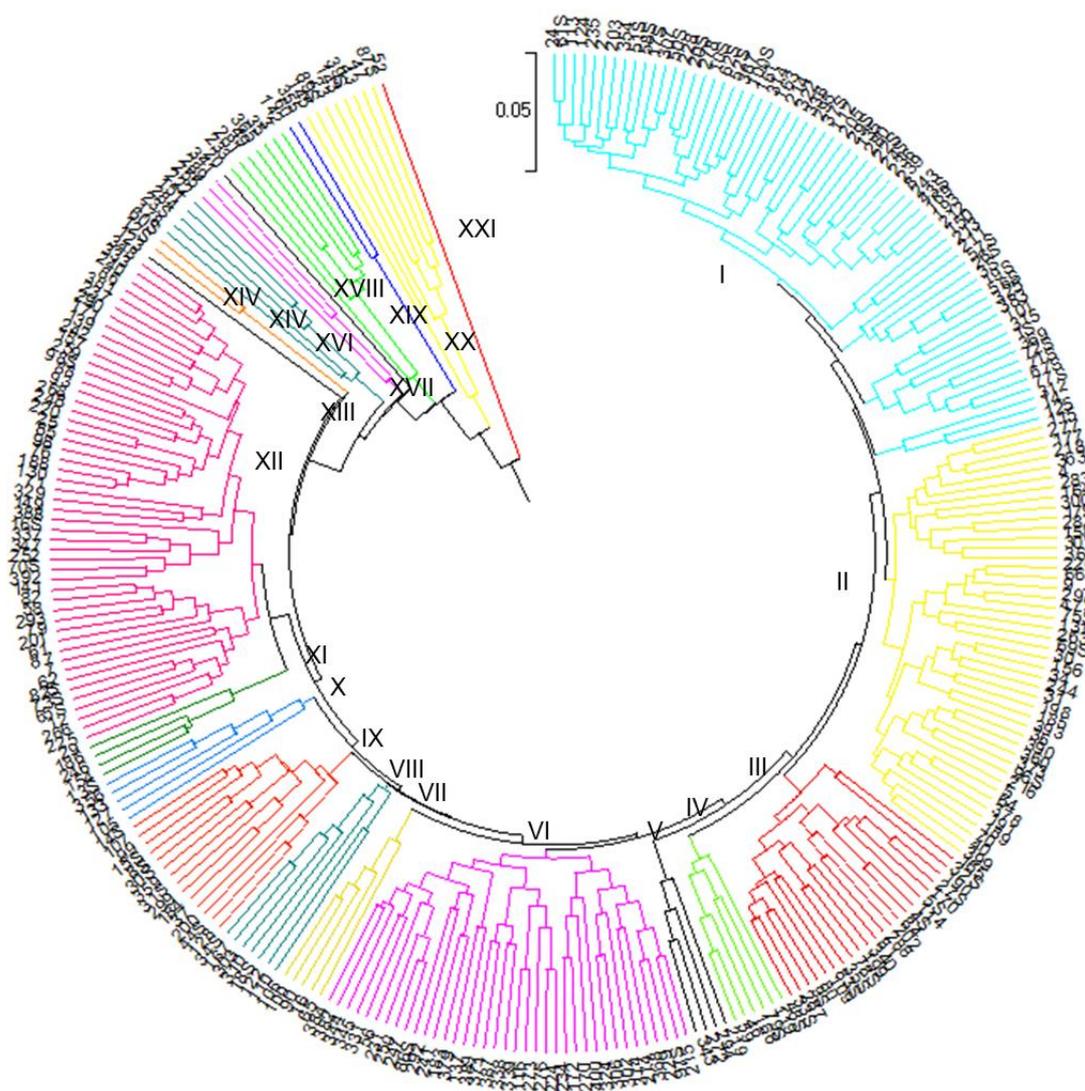


Figura 1. Dendrograma obtido pelo método de ligação média entre grupos (UPGMA), baseada na análise de 294 indivíduos segregantes de população F_2 de mamoeiro, utilizando a distância euclidiana média padronizada para análise de treze características morfoagronômicas (Coeficiente de correlação cofenética= 0,72).

Na figura 2 encontra-se a contribuição relativa das características à diversidade genética entre os indivíduos da população F_2 avaliada. Verifica-se que a característica que proporcionou maior contribuição relativa foi altura da planta com 40,56%, seguida de comprimento do fruto com 36,90% e diâmetro do caule com 13,90%. Enquanto que as demais características apresentaram menores contribuições, sendo que TSS, EP, NFD e MF não apresentaram contribuição para a divergência. Em estudo de divergência genética do banco ativo de germoplasma do mamoeiro UENF/Caliman, Quintal (2009) verificou que o comprimento do fruto proporcionou maior contribuição relativa à divergência com 41%, atribuindo este resultado à avaliação de indivíduos de grupos heteróticos distintos, onde a variação de tamanhos de frutos é extremamente perceptível. Percebe-se no presente estudo que o CF é uma característica que apresenta considerável variação mesmo em populações derivadas de cruzamento biparental intragrupo heterótico como no caso da população F_2 aqui avaliada. No estudo realizado por Quintal (2009), características como FF e FP também contribuíram pouco com a divergência genética com valores de 3,74 e 4,45%. Verifica-se que a firmeza é uma característica que apresenta baixa contribuição para a explicação da variação total disponível na população avaliada neste estudo podendo ser descartada em avaliações de divergência genética.

O conhecimento da importância relativa de cada característica para a estimativa da divergência genética é de grande utilidade prática nos programas de melhoramento para descartar variáveis com pouca contribuição, visto que pode representar economia de tempo, custos e mão de obra.

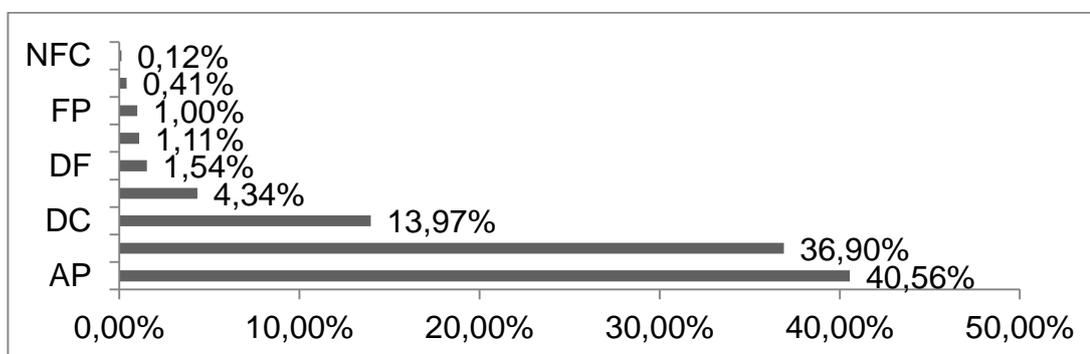


Figura 2. Contribuição genética relativa das características avaliadas em indivíduos segregantes de população F_2 de mamoeiro, estimada pela metodologia proposta por Singh (1981).

3.1.5 CONCLUSÕES

1. As características produção, altura da planta, diâmetro do caule, massa do fruto, comprimento do fruto, e espessura da polpa, apresentaram coeficientes de repetibilidade de elevada magnitude, o que demonstra regularidade na repetição das características de uma avaliação para outra. No entanto, para as características produção, número de frutos comerciais e firmeza da polpa as magnitudes de repetibilidade foram baixas.
2. O índice de seleção facilitou a seleção combinada de 25 indivíduos para as principais características de interesse, indicando o potencial genético que podem apresentar estes indivíduos para desenvolver linhagens superiores.
3. Os indivíduos que apresentaram valores fenotípicos elevados para as características foram os mais distantes geneticamente da população avaliada.
4. As características que apresentaram maior contribuição à divergência genética foram altura da planta, comprimento do fruto e diâmetro do caule, podendo ser utilizadas em estudos de diversidade genética para discriminação dos indivíduos da população F_2 avaliada.

3.2 VALIDAÇÃO DE UMA METODOLOGIA DE FENOTIPAGEM DE CARACTERÍSTICAS MORFOAGRONÔMICAS EM MAMOEIRO BASEADA EM IMAGENS DIGITAIS

3.2.1 INTRODUÇÃO

O mamoeiro é uma fruteira que apresenta um ciclo reprodutivo relativamente longo, na qual devem ser realizadas avaliações repetidas em cada indivíduo sobre diferentes condições ambientais. Portanto, os experimentos requerem várias repetições, grande número de tratamentos, rigor e precisão nos métodos de seleção.

Tradicionalmente, a fenotipagem das características de interesse é realizada manualmente, sendo uma atividade cara e demorada, que demanda mão de obra intensiva e exige ampla experiência do avaliador. Desta forma, a fenotipagem manual limita a avaliação de grande número de indivíduos, podendo diminuir a precisão experimental e reduzir as chances de selecionar genótipos superiores bem como de obter ganho genético (Rosher et al., 2014).

Com intuito de melhorar a eficiência da fenotipagem das características de interesse foram desenvolvidas metodologias baseadas em análise e processamento de imagens. Essas metodologias possibilitam mensurações não destrutivas, com pouca mão de obra, economia de recursos financeiros, rapidez e precisão. A expectativa é que a aplicação dessas metodologias permita uma fenotipagem de alto rendimento de modo a aumentar o número de genótipos

avaliados, aperfeiçoar a aquisição e análise de dados e minimizar o erro experimental (Li et al., 2014; Roscher et al., 2014).

Características como altura da planta e diâmetro do caule foram estimadas em cedro australiano com boa precisão através de análise de imagens (Ferreira et al., 2012). Algoritmos de processamento de imagens foram desenvolvidos para estimar com boa precisão a altura da planta em arroz (Sritarapat et al., 2014), o diâmetro do caule em cedro vermelho australiano (Shimizu et al., 2014), o número de frutos comerciais em macieira (Aggelopoulou et al., 2011), mangueira (Payne et al., 2013) e videira (Roscher et al., 2014). Por sua vez, algoritmos de processamento foram validados para estimar comprimento, diâmetro e volume do fruto em melancia (Koc, 2007), mamão (Riyadi et al., 2007) e laranja (Khojastehnazhand et al., 2009).

Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivos: validar uma metodologia de análise de imagens digitais para estimar características morfoagronômicas da planta e estimar características morfoagronômicas do fruto através de processamento de imagens digitais.

3.2.2. REVISÃO

3.2.2.1 Aplicações das metodologias baseadas em imagens digitais na fenotipagem de plantas

O processamento de imagens digitais por meio de um computador inclui as tarefas de edição, segmentação, reconhecimento e análise de objetos na imagem (Gonzalez e Woods, 2002). A visão computacional é uma área da inteligência artificial que tem como objetivo simular a visão humana através de tarefas de aprendizagem, inferência e tomada de decisões a partir de informações visuais (Gunasekaran, 2000; Gonzalez e Woods, 2002).

As aplicações na agricultura do processamento de imagens digitais e a visão computacional abrangem diversas áreas. Na pré e pós-colheita para inspeção da qualidade e determinação do tamanho de frutos, predição do rendimento e estimativas dos níveis de adubação e irrigação (Forbes e

Tattersfield, 1999; Sabliov et al., 2002). Também vêm sendo utilizadas no monitoramento aéreo de lavouras, na determinação e reconhecimento de doenças e estresses abióticos, na estimação de características morfológicas e morfoagronômicas (Pandey et al., 2013).

O processamento de imagens e a visão computacional vêm ganhando interesse na fenotipagem de plantas resultante das inúmeras vantagens, como mensurações não destrutivas, praticidade, economia de tempo e custos, rapidez e elevada precisão. Um método baseado em processamento de imagens digitais foi desenvolvido por Han (2011) com o propósito de mensurar a altura de árvores. Para tanto, utilizou uma câmera digital convencional e três pontos marcadores fixados ao longo do tronco a uma mesma distância. Após a segmentação da imagem, as três coordenadas e o topo da árvore foram utilizadas para estimar a altura utilizando a teoria de similaridade de triângulos, obtendo uma precisão de 93%. Da mesma forma, Ferreira et al. (2012) também utilizando uma câmera digital convencional fotografaram árvores individuais de cedro australiano (*Toona ciliata*) para mensurar a altura da planta, o diâmetro do colo e o diâmetro à altura do peito. Os autores obtiveram médias similares às estimadas pela fenotipagem manual.

Em fruteiras, Aggelopoulou et al. (2011), desenvolveram uma plataforma de fenotipagem baseada em visão computacional para estimativas rápidas e acuradas do rendimento de pomares de macieira nas cultivares Red delicious (vermelha) e Grany Smith (verde). Empregando um algoritmo de análise e processamento de imagens os frutos foram reconhecidos através de pistas visuais identificando as regiões de maçãs vermelhas ou verdes nas imagens. Finalmente usando operações morfológicas as regiões de frutos de maçãs foram convertidas a um número de frutos com uma precisão maior a 90%.

Em mangueira, Payne et al. (2013) estimaram a produção de frutos através de um algoritmo baseado em visão computacional. Os pixels dos frutos foram segmentados do fundo usando segmentação de cor e uma segmentação de textura baseada em variabilidade de pixels vizinhos. Foi verificada uma correlação de 0,86 entre as estimativas da produção realizadas empregando o algoritmo e pelas contagens realizadas manualmente.

Roscher et al. (2014) utilizaram a análise e processamento de imagens para estimar o número de bagas de videira em diferentes estádios de

desenvolvimento nas cultivares Riesling, Pinot Blanc, Pinot Noir, Dornfelder. Para tanto, desenvolveram um algoritmo analisando gradientes de cores e operações morfológicas. Os autores obtiveram uma correlação de 0,88 entre as estimativas realizadas utilizando a metodologia proposta e as obtidas manualmente.

As características relacionadas com a qualidade dos frutos também têm sido estimadas através de processamento de imagens e visão computacional. Um algoritmo de visão computacional utilizando redes neurais artificiais foi desenvolvido por Forbes e Tattersfield (1999). O algoritmo proporcionou estimativas do volume de frutos de pêra com erros de 3% quando uma imagem foi utilizada e de 2% quando um conjunto de quatro imagens foi utilizado.

Em melancia (Koc, 2007), kiwi (Rashidi et al., 2007) e melão (Rashidi et al., 2009), o volume do fruto foi estimado empregando algoritmos de análise e processamento de imagens através do método do disco. Nesse método, a partir de imagens binárias, a silhueta de cada fruto é representada por discos cilíndricos e o volume obtido pela soma dos volumes dos discos. Estes autores verificaram que o volume estimado pela análise e processamento de imagens não foi significativamente diferente do calculado pelo método de deslocamento da coluna de água.

Em mamão, Riyadi et al. (2007) desenvolveram um sistema de classificação de frutos usando análise e processamento de imagens. Inicialmente, o volume do fruto foi estimado a partir do rádio da silhueta da imagem binária em diferentes áreas e integrando sobre o comprimento de cada área. Finalmente, a massa do fruto foi estimada utilizando o volume do fruto. O sistema de classificação de frutos apresentou uma precisão maior de 90%.

Em laranja, Khojastehnazhand et al. (2009) utilizaram análise e processamento de imagens digitais para determinar o volume e a área de frutos. O volume foi estimado considerando a geometria axi-simétrica. Neste método, o objeto é modelado como a soma de elementos cônicos e o volume obtido pela soma de todos os elementos cônicos. O volume estimado pela metodologia proposta não foi significativamente diferente do calculado pelo método de deslocamento da coluna de água.

Recentemente, Siswanto et al. (2014) desenvolveram um sistema de visão computacional para estimar o volume de frutos com formatos irregulares baseado no método de simulação Monte Carlo. Para tanto, cinco imagens foram

obtidas usando cinco webcams e processadas para formar silhuetas dos frutos. A partir das silhuetas foi estimado o volume dos frutos. Os resultados experimentais mostraram que o método proposto proporcionou estimativas com maior precisão em comparação ao método do deslocamento da coluna de água.

3.2.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.3.1 Fenotipagem das características morfoagronômicas da planta

O experimento foi conduzido na área comercial da empresa Caliman Agrícola S/A localizada no município de Linhares, no Estado do Espírito Santo. Foram amostradas aleatoriamente 150 plantas do híbrido 'UENF/Caliman-01' e 150 da variedade 'THB' em dois talhões comerciais. Cada planta utilizada neste experimento foi devidamente identificada para facilitar a comparação entre a metodologia proposta e a metodologia manual. Desta forma, as plantas foram fenotipadas manualmente. Sendo as características altura da planta (AP) e altura de inserção do primeiro fruto (AIPF) mensuradas com trena e expressas em cm, por sua vez, o diâmetro do caule (DC) foi medido aos 20 cm a altura do solo utilizando paquímetro digital e expresso em mm. Também foram avaliadas as características: número de frutos comerciais (NFC) e número de frutos deformados (NFD). Na contagem de frutos, somente foram considerados aqueles com formato definido, sendo marcado o último fruto avaliado para facilitar a contagem digital. Neste estudo, os frutos pentrândricos e carpelóides foram classificados como frutos deformados.

Para a fenotipagem digital foi utilizada uma câmera digital convencional, sendo cada planta fotografada em duas posições diferentes, uma perpendicular à planta (Imagem A) (Figura 1A e C) considerando o eixo da fileira e outra pelo lado oposto da mesma planta utilizada na imagem A (Imagem B) (Figura 1B e D). As fotos foram obtidas mantendo uma distância de 2,5 m da fileira à planta. A imagem A foi utilizada para mensurar as características AP, AIPF e DC (Figura 1A). Por sua vez, duas imagens (imagem A + Imagem B) foram utilizadas para estimar: NFC e NFD (Figura 1A, B, C e D).

As imagens foram analisadas utilizando o *software* de domínio público ImageJ 1.49v. Em cada planta fotografada foi colocada uma régua como medida de referência para facilitar a calibração realizada pela função *set scale* do *software*. As características NFC e NFD foram estimadas utilizando o plugin *Cell Counter* que faz parte do ImageJ.



Figure 1. Imagens utilizadas para estimar características morfoagronômicas da planta. (A e B) indicam as imagens utilizadas no híbrido ‘UENF/Caliman-01’; (C e D) imagens utilizadas na variedade ‘THB’. (A e C), a imagem A perpendicular à planta considerando o eixo da fileira; (B e D), a imagem B considerando o lado oposto da mesma planta utilizada na Imagem A. A Imagem A foi utilizada para mensurar a altura da planta (AP), altura de inserção do primeiro fruto (AIPF) e o diâmetro do caule (DC); duas imagens (Imagem A + Imagem B) foram utilizadas para estimar o número de frutos comerciais (NFC) e o número de frutos deformados (NFD). As setas laranja mostram a marca utilizada para identificar o último fruto avaliado.

3.2.2.2 Fenotipagem de características morfoagronômicas do fruto

Para este estudo selecionaram-se 50 frutos da variedade ‘THB’ nos quais foram mensuradas as características: Comprimento do fruto (CF), Diâmetro maior do fruto (DF1) e Diâmetro menor do fruto (DF2). As mensurações foram

realizadas com paquímetro digital e expressas em mm. Os frutos foram pesados utilizando balança analítica. O volume do fruto foi calculado com o método do deslocamento da coluna da água (DCA). Para tanto, cada fruto foi imerso em um recipiente volumétrico graduado de 10 litros contendo um volume inicial de água conhecido (volume inicial). Calculando a diferença entre o volume final e o volume inicial obteve-se o volume do fruto.

O sistema de processamento de imagens (PI) consistiu de uma caixa de dimensões $50 \times 60 \times 60$ cm, com as paredes internas recobertas com cartolina branca e iluminadas com duas lâmpadas PL de 20 W. Uma webcam foi colocada na parte superior da caixa acoplada a um notebook equipado com o *software* ImageJ. Cada fruto foi colocado no centro do campo de visão da câmera e duas imagens RGB coloridas foram capturadas após girar manualmente o fruto 90° em torno do seu eixo longitudinal. Uma fita de medidas conhecidas foi colocada na superfície do fruto e a calibração foi feita utilizando a função *set scale* do *software* ImageJ. A imagem original de cada fruto foi convertida a uma imagem em tons de cinza de oito bits. Usando a técnica de limiar, a região de interesse na imagem de tons de cinza foi segmentada usando o algoritmo Otsu. O resultado da segmentação foi uma imagem binária com valores de pixels de 0 (preto) ou 255 (branco). A partir da imagem em tons de cinza valores menores do que 144 foram convertidos em 0 (preto) e valores maiores do que 144 foram convertidos a 255 (branco), produzindo uma imagem binária para cada fruto. O filtro Canny foi utilizado para reconhecer as bordas de cada imagem. O fluxograma do processamento de imagens encontra-se ilustrado na figura 2. O número de pixels que representam o comprimento e largura dos frutos foi medido na imagem binarizada.

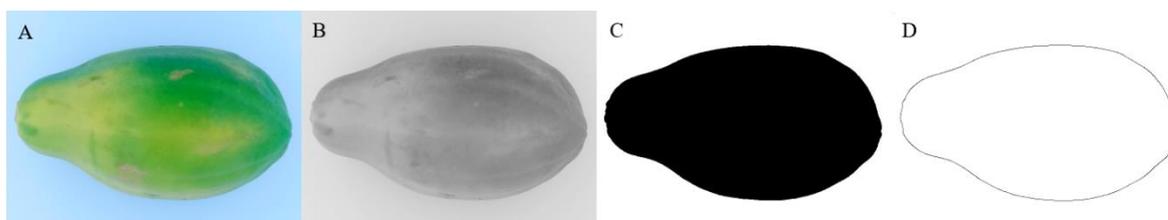


Figura 2. Processamento de imagens digitais. A) imagem original RGB de mamão, B) imagem em tons de cinza, C) imagem binarizada, D) imagem de contorno.

Os parâmetros major e minor do ImageJ foram utilizados para validar as mensurações do CF, DF1 e DF2. Assim, o parâmetro major foi comparado com a característica CF e o parâmetro minor foi comparado com as características DF1 e DF2. Major e minor 1 foram obtidos a partir da primeira imagem e minor 2 mediu-se usando a imagem obtida após girar o fruto 90° em torno de seu eixo longitudinal.

Para estimar o volume usando as dimensões do fruto obtidas via imagem digital e as obtidas usando paquímetro, cada fruto de mamão foi considerado como um elipsoide uniforme. Assim, o volume do fruto foi estimado a partir do comprimento (CF), diâmetro maior (DF1) e o diâmetro menor (DF2) conforme a expressão de aproximação a um elipsoide (EA) (Koc, 2007):

$$v = \pi \frac{(CF \times DF1 \times DF2)}{(6)} \quad (1)$$

3.2.3 Análise estatística

Para verificar se as metodologias de fenotipagem baseadas em imagens digitais diferem estatisticamente da metodologia manual, foi aplicado o teste t de Student para avaliar as diferenças de médias populacionais, para dados pareados (mesma população: fenotipagem metodologia manual e baseada em imagens). Além disso, foram construídos intervalos de confiança para a diferença média das metodologias (dados pareados).

O erro médio relativo das metodologias baseadas em imagens foi calculado usando a seguinte expressão (Zhang, 2000):

$$Erro = \left| \frac{\bar{x}_m - \bar{x}_i}{\bar{x}_m} \right| \times 100 \quad (2)$$

Em que:

\bar{x}_m : média da característica obtida usando a metodologia tradicional;

\bar{x}_i : média da característica obtida via imagem digital.

Foram calculadas correlações de Pearson entre as mensurações manuais e as obtidas através de imagens digitais para as características avaliadas.

Tratando-se de um estudo que tem como objetivos validar uma metodologia de fenotipagem para ser aplicada ao melhoramento genético, foi realizada uma simulação para estabelecer o número mínimo de plantas que devem ser utilizadas nas parcelas experimentais a partir dos resultados observados na validação da metodologia proposta. A simulação foi realizada para o número de frutos comerciais (NFC) devido à importância agrônômica desta característica. Para tanto, foi calculada a diferença média relativa do NFC simulando diferentes números de plantas (k), mensuradas com duas imagens (imagem A + imagem B) e uma imagem (imagem A e imagem B). Em cada simulação foram geradas amostras de tamanho k (1, 2, 4, 5, 8, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140 e 150).

A abordagem Bland e Altman (1999) foi realizada para plotar a concordância entre o volume do fruto de mamão medido pelo DCA e EA. Esta abordagem é utilizada para analisar a concordância entre dois métodos diferentes que mensuram uma mesma variável com igual unidade de medida. Assim, permite decidir se as diferenças entre as mensurações dos dois métodos podem ser aceitáveis e equivalentes.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando os recursos computacionais do *software* SAS *Studio* 3.5 (SAS Institute, Cary in, NY, USA).

3.2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.2.4.1 Fenotipagem das características morfoagronômicas da Planta

Na tabela 1 encontram-se as estatísticas obtidas pelas duas metodologias de fenotipagem de características morfoagronômicas mensuradas no híbrido 'UENF/Caliman-01' e na variedade 'THB'. Verifica-se que não houve diferenças ($p > 0,05$) entre as médias da altura da planta (AP), diâmetro do caule (DC), e altura de inserção do primeiro fruto (AIPF). Da mesma forma, estes resultados foram verificados nos intervalos construídos para a diferença média das metodologias. Todos os intervalos contem zero, portanto, as médias estimadas para estas características pelas duas metodologias são iguais. Estes resultados indicam que

a fenotipagem destas características assistida por imagens digitais pode ser utilizada para substituir a metodologia tradicional. A análise de imagens digitais também foi utilizada em outras culturas para avaliar características de interesse. Por exemplo, Ferreira et al. (2012) não encontraram diferenças significativas entre as médias das características morfológicas de cedro australiano mensuradas manualmente e através de análise de imagens digitais. Por sua vez, Sritarapat et al. (2014) e Miller et al. (2015) validaram algoritmos de processamento de imagens digitais para estimar a altura da planta de arroz e *Tilia platyphyllos*, *Acer campestre*, *A. rubrum*, *Juglans regia*, respectivamente, obtendo resultados similares aos encontrados usando a metodologia tradicional.

Para as características AP e AIPF nas duas cultivares não houve erro médio relativo da metodologia assistida por imagens digitais. Para a característica DC nas duas cultivares o erro médio relativo foi de 1% (Tabela 1). Estes erros são menores aos relatados para estimativas de diâmetros encontrados por Shimizu et al. (2014), os quais usando um algoritmo de análise e processamento mensuraram esta característica em cedros japoneses com erro máximo de 7% e mínimo de 2%.

Estes resultados mostram que a fenotipagem das características morfológicas em mamoeiro baseada em análise de imagens digitais possibilita estimativas precisas. Os erros da análise de imagens na estimação do diâmetro do caule podem ser devidos à arquitetura irregular de algumas plantas. Por exemplo, caules cilíndricos podem ser mensurados com maior precisão do que os deformados. Verifica-se que as correlações entre as mensurações manuais e usando análise de imagens digitais das características morfológicas foram altas variando de 0,97 a 0,98 nas duas cultivares, mostrando que as duas metodologias de fenotipagem apresentam boa consistência.

Em relação às características número de frutos comerciais (NFC) e número de frutos deformados (NFD), utilizando duas imagens (imagem A+ imagem B), não houve diferenças ($p > 0,05$) entre as médias. Além disso, os intervalos de confiança para a diferença média das metodologias, contêm zero, confirmando a igualdade entre as médias (Tabela 1). Assim, a metodologia de análise de imagens digitais pode ser empregada para a fenotipagem destas características. O erro médio relativo foi baixo para a característica NFC sendo

1% no híbrido 'UENF/Caliman-01' e 0% na variedade 'THB'. Já para NFD o erro médio relativo foi de 2% no híbrido e 5% na variedade (Tabela 1).

Tabela 1 Estatísticas obtidas nas características morfoagronômicas no híbrido 'UENF/Caliman-01' e na variedade 'THB'

Característica 'UENF/Caliman-01'	Mensuração	Média	IC	Erro	<i>r</i>
AP	Manual	224,85a			
AP	Imagem	224,91a	[-1,23; 1,10]	0	0,98
DC	Manual	113,39a			
DC	Imagem	112,78a	[-1,02; 2,24]	1	0,97
AIPF	Manual	78,06a			
AIPF	Imagem	77,79a	[-0,63; 0,09]	0	0,98
NFC	Manual	21,97a			
NFC	Imagem A + Imagem B	21,79a	[-1,05; 1,40]	1	0,98
NFC	Imagem A × 2	22,19a	[-1,50; 1,06]	1	0,93
NFC	Imagem B × 2	21,40a	[-0,76; 1,89]	3	0,92
NFD	Manual	4,60a			
NFD	Imagem A + Imagem B	4,50a	[-0,10; 0,30]	2	0,87
NFD	Imagem A × 2	4,52a	[-0,26; 0,42]	2	0,79
NFD	Imagem B × 2	4,48a	[-0,23; 0,27]	3	0,71
'THB'					
AP	Manual	190,61a			
AP	Imagem	191,29a	[-1,42; 0,07]	0	0,98
DC	Manual	101,40a			
DC	Imagem	99,91a	[-0,06; 3,03]	1	0,97
AIPF	Manual	74,03a			
AIPF	Imagem	73,80a	[-0,66; 0,19]	0	0,97
NFC	Manual	40,75a			
NFC	Imagem A + Imagem B	40,90a	[-0,55; 0,42]	0	0,97
NFC	Imagem A × 2	40,60a	[-0,72; 1,21]	0	0,90
NFC	Imagem B × 2	41,20a	[-1,20; 0,44]	1	0,92
NFD	Manual	3,81a			
NFD	Imagem A + Imagem B	3,63a	[-0,08; 0,33]	5	0,87
NFD	Imagem A × 2	4,33b	[-0,77; -0,27]	14	0,70
NFD	Imagem B × 2	2,92b	[0,55; 0,93]	23	0,70

AP: altura da planta; DC: diâmetro do caule; AIPF: altura de inserção do primeiro fruto; NFC: número de frutos comerciais; NFD: número de frutos deformados. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste t em nível de 5%. IC: intervalo de confiança. *r*: coeficiente de correlação de Pearson.

Foram observadas altas correlações entre as médias de NFC obtidas usando duas imagens e as médias obtidas manualmente, sendo 0,98 no híbrido e 0,97 na variedade. Por sua vez, para NFD foram encontradas correlações com magnitudes de 0,87 em ambos os genótipos. Estas correlações são maiores do que as encontradas em fruteiras utilizando metodologias de fenotipagem baseadas em imagens digitais. Por exemplo, em macieira Zhou et al. (2012) validaram um algoritmo para estimar a produção de frutos verdes claros e vermelhos com correlações de 0,80 e 0,85 em relação à contagem manual. Em videira Roscher et al. (2014), desenvolveram um algoritmo para estimar o número e tamanho de bagas em diferentes estádios de desenvolvimento. O algoritmo identificou as bagas com uma diferença média do diâmetro de um mm e uma correlação de 0,88 em relação às mensurações realizadas com paquímetro.

Com o intuito de determinar quantas imagens podem ser empregadas na fenotipagem das características NFC e NFD, as imagens A e B foram comparadas para avaliar a simetria entre os lados fotografados em relação às referidas características. Para tanto, o número de frutos obtido em cada imagem foi multiplicado por dois e as médias estimadas comparadas com as obtidas manualmente pelo teste t para dados pareados. Em relação ao NFC, as médias obtidas usando uma imagem (Imagem A \times 2 e Imagem B \times 2) não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) das médias obtidas pelas mensurações manuais em ambos os genótipos. Além disso, o erro médio relativo foi baixo e próximo do calculado com as duas imagens nesta característica em ambas as cultivares. Estes resultados indicam que o número de frutos comerciais pode ser obtido utilizando uma imagem sem perda de precisão experimental.

Embora os erros da estimação desta característica sejam baixos nos dois genótipos, pode-se observar que existem diferenças entre estes, sendo a precisão maior na variedade do que no híbrido. Isto pode ser devido à maior oclusão dos frutos no híbrido do que na variedade. Em alguns casos, um fruto não é completamente visível porque as folhas, ramos, ou frutos impedem sua visualização, ou mais frutos podem estar crescendo num mesmo nó. Desta forma, a oclusão dos frutos pode minimizar a área visível dos mesmos dificultando sua detecção na imagem. A oclusão de frutos tem sido amplamente comentada nas pesquisas de reconhecimento de frutos através de metodologias baseadas em

imagens digitais (Aggelopoulou et al., 2011; Dorj et al., 2013; Payne et al., 2013; Roscher et al., 2014).

As correlações entre o NFC estimadas pela metodologia manual e utilizando uma imagem (Imagem A \times 2 e Imagem B \times 2) foram altas, mostrando que a consistência entre as metodologias pode ser mantida empregando uma imagem. A boa consistência entre as duas metodologias é muito importante para fins de predição de rendimentos em plantios comerciais, já que a contagem de frutos comerciais via imagem digital pode ser utilizada para alimentar modelos matemáticos de predição do rendimento gerando informações úteis para aperfeiçoar as atividades na colheita, pós-colheita, *packing house* e na comercialização (Aggelopoulou et al., 2011).

No caso dos frutos deformados pode-se observar que no híbrido 'UENF/Caliman-01' as médias obtidas utilizando uma imagem (imagem A \times 2 e imagem B \times 2) não apresentaram diferenças significativas das médias obtidas pelas mensurações manuais. No entanto, na variedade 'THB' as médias obtidas empregando uma imagem apresentaram diferenças ($p \leq 0,05$) das médias obtidas pelas mensurações manuais. Além disso, as correlações entre as estimativas realizadas pela metodologia manual e utilizando uma imagem (Imagem A \times 2 e Imagem B \times 2) foram menores às encontradas empregando duas imagens variando de 0,70 a 0,79, mostrando que a consistência diminui empregando uma imagem. O erro médio relativo aumentou consideravelmente quando uma imagem foi utilizada. Assim, no híbrido 'UENF/Caliman-01' o erro foi de 2% (imagem A \times 2) e 3% (Imagem B \times 2). Já na variedade 'THB' o erro foi de 14% (imagem A \times 2) e 23% (imagem B \times 2). O NFD no híbrido pode ser estimado utilizando uma imagem indicando que os lados fotografados são simétricos. No entanto, na variedade 'THB' os lados fotografados apresentaram diferenças mostrando que não são simétricos. Estas diferenças podem ser devido a maior variação desta característica na variedade. Outra possível explicação é que em 'THB' existe uma dificuldade maior em identificar a parte do fruto que apresenta a anomalia, tendo em vista que os frutos carpelóides podem ser confundidos com frutos comerciais. Já no caso dos frutos pentândricos a identificação é mais fácil devido ao formato característico destes. No entanto, um avaliador devidamente treinado e experiente pode identificar na imagem a maioria dos frutos deformados diminuindo o erro da metodologia.

Os resultados da simulação do número mínimo de plantas necessárias nas parcelas experimentais para estimar a característica NFC são mostrados na figura 3A e B. Para o híbrido 'UENF/Caliman-01', pode-se observar que, empregando duas imagens e utilizando uma planta a diferença relativa foi 5%, sendo que essa diferença foi menor com o aumento do tamanho da amostra. Considerando que as parcelas experimentais em mamoeiro podem ser constituídas por um número mínimo de duas plantas e um máximo de 10 plantas, estes resultados mostram que a metodologia de análise de imagens digitais pode ser utilizada para estimar esta característica em parcelas experimentais. Na simulação realizada utilizando uma imagem, verifica-se que, com o aumento do tamanho da amostra a diferença relativa também diminui. No entanto, a diferença relativa é maior em comparação aos resultados obtidos empregando duas imagens. Assim, utilizando-se a imagem $A \times 2$ e uma planta, a diferença foi 22%, enquanto que usando a imagem $B \times 2$ a diferença foi 9%. Já com duas plantas a diferença relativa empregando a imagem $A \times 2$ foi 15% e 9% utilizando a imagem $B \times 2$. Por sua vez, utilizando quatro plantas a diferença foi 1% empregando a imagem $A \times 2$ e 4% com a imagem $B \times 2$.

Verifica-se que na variedade 'THB', empregando duas imagens e uma planta a diferença relativa foi 9% sendo que essa diferença foi menor com o aumento do tamanho da amostra. Utilizando uma imagem, pode-se observar que, com o aumento do tamanho da amostra a diferença relativa também diminui. No entanto, a diferença relativa é maior em comparação aos resultados obtidos empregando duas imagens. Desta forma, utilizando-se a imagem $A \times 2$ e uma planta a diferença foi 22%, enquanto que empregando a imagem $B \times 2$ a diferença foi 9%. Por sua vez, simulando duas plantas a diferença obtida empregando a imagem $A \times 2$ foi 14% e 10 % com a imagem $B \times 2$. Já utilizando quatro plantas a diferença foi 4% empregando a imagem $A \times 2$ e de 6 % com a imagem $B \times 2$.

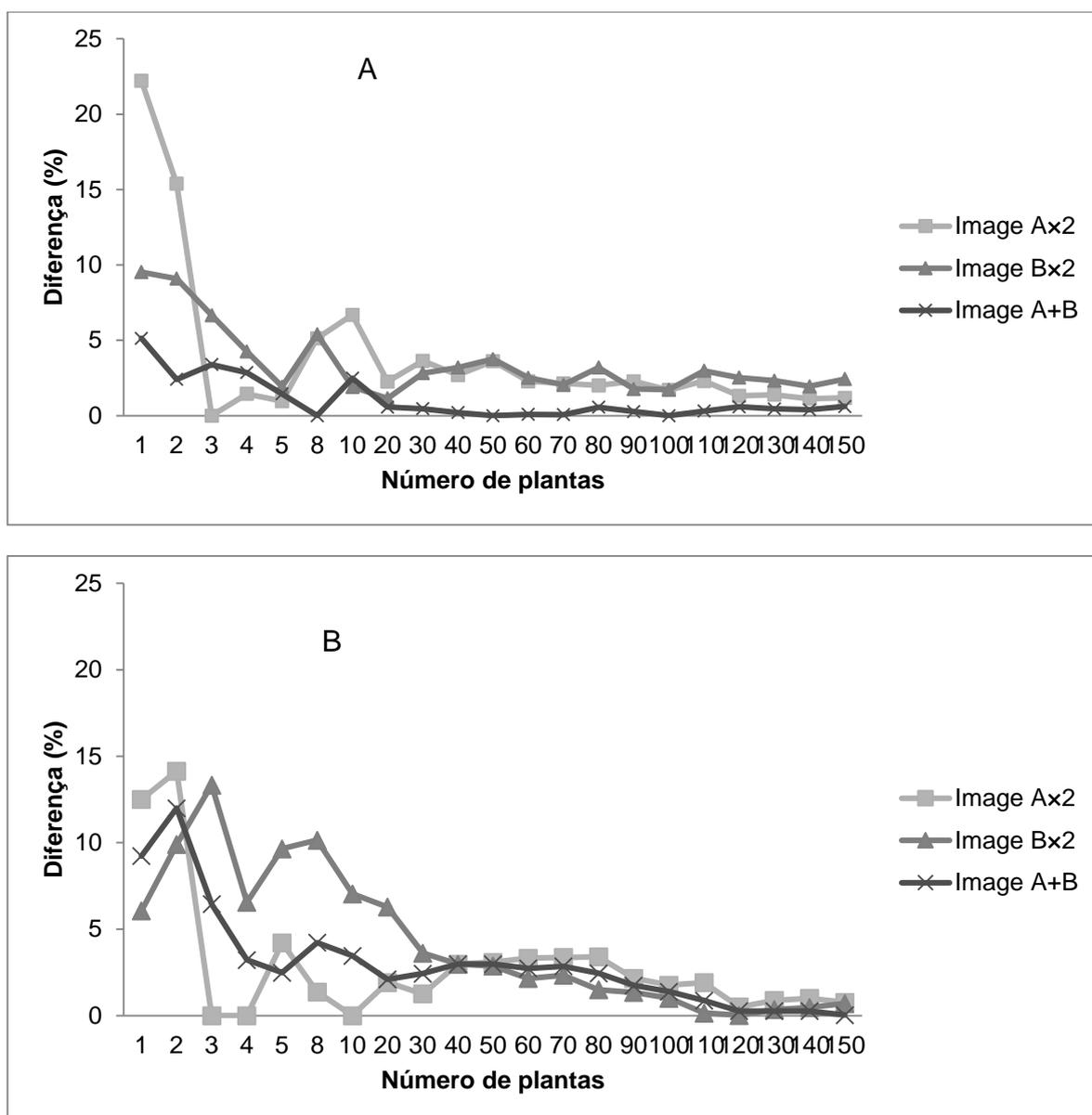


Figura 3. Relação entre o tamanho da parcela (K plantas por parcela) e a diferença média relativa da estimação do número de frutos comerciais (NFC) utilizando: duas imagens (A + B) e uma imagem (Imagem A x 2 e Imagem B x 2). A) Resultados obtidos no híbrido 'UENF/Caliman-01'; B) Resultados obtidos na variedade 'THB'.

Estes resultados sugerem que experimentos formados por parcelas com poucas plantas ($k=2, 3$) a estimação do NFC pode ser realizada com duas imagens, por sua vez, experimentos com parcelas maiores ($k \geq 4$), esta característica pode ser avaliada empregando uma imagem.

3.2.4.2 Fenotipagem de características morfoagronômicas do fruto

Verifica-se que as médias das características CF, DF1 e DF2 mensuradas com paquímetro não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) com as médias dos parâmetros major, minor 1 e minor 2, respectivamente (Tabela 2). Estes resultados indicam que os parâmetros major e minor equivalem ao comprimento e diâmetro dos frutos de mamão e, portanto podem ser utilizados para estimar estas características através de processamento de imagens digitais (PI). Não houve erros relativos das estimativas usando imagens digitais nas três características, o que mostra que esta metodologia pode estimar estas características com boa precisão. Vários autores têm relatado o sucesso das estimativas de diâmetros e comprimentos de fruteiras através do uso de imagens digitais. Por exemplo, Koc (2007) trabalhando com melancia validou estas características usando imagens digitais obtendo médias similares às mensurações realizadas com paquímetro. Em laranja, Khojastehnazhand et al. (2009) encontraram que as médias obtidas com PI foram similares às mensuradas com paquímetro. Em mamão Riyadi et al. (2007) usando imagens digitais validaram as estimativas do comprimento e diâmetros do fruto obtendo médias similares às mensuradas com paquímetro.

Tabela 2. Estatísticas obtidas nas características morfoagronômicas do fruto na variedade 'THB'

Característica	Mensuração	Média	IC	Erro (%)
Comprimento do fruto	Paquímetro	13,50a		
	Imagem	13,53a	[-0,1; 0,02]	0,22
Diâmetro maior do fruto	Paquímetro	8,40a		
	Imagem	8,42a	[-0,1; 0,03]	0,23
Diâmetro menor do fruto	Paquímetro	8,16a		
	Imagem	8,19a	[-0,07; 0,12]	0,36
Volume do fruto	DCA	473,7a		
	Paquímetro	470,8a	[-3,6; 9,0]	1,0
	Imagem	479,5a	[-14,5; 2,5]	1,0

DCA: deslocamento da coluna de água; IC: intervalo de confiança; médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem (teste t para dados pareados, $p > 0,05$). O Comprimento e os diâmetros do fruto expressos em cm e o volume do fruto em mL.

A correlação entre o volume calculado pelo DCA e a expressão de aproximação a um elipsoide (EA) usando as dimensões obtidas com paquímetro digital foi alta ($r = 0,96$) (Figura 4A). De acordo com a abordagem de Bland e Altman (1999), estes métodos são concordantes, o que significa que o volume dos frutos de mamão pode ser estimado usando a EA com as dimensões do fruto obtidas usando paquímetro. A concordância foi observada quando apenas foram utilizados o diâmetro menor e o comprimento do fruto na EA. A diferença média (dm) entre o volume estimado usando as dimensões obtidas com paquímetro digital e pelo DCA foi de $dm = 2,73$ mL (Figura 4B). O desvio padrão das diferenças de volume foi de $DP = 22,17$ mL. O volume do fruto de mamão mensurado pelo DCA e o volume estimado com o paquímetro foi similar ($p > 0,05$) (Tabela 2). Noventa e cinco por cento das diferenças do volume são esperadas a situar-se entre $(dm - 1,96 \times DP)$ e $(dm + 1,96 \times DP)$, conhecidos como limites de concordância (Bland e Altman, 1999). Os limites de concordância das diferenças entre o volume calculado pelo DCA e pela EA foram $-40,71$ e $46,2$ mL (Figura 4B). Os volumes estimados pela expressão de aproximação podem ser menores de $40,71$ mL ou $46,2$ mL mais elevados do que os volumes calculados pelo DCA. Os erros desta metodologia podem ser devido ao uso de uma expressão de aproximação, a qual é baseada no pressuposto de que os frutos apresentam formato de um elipsoide perfeito. Portanto, frutos com formatos irregulares incrementam os erros desta metodologia. Isto foi evidenciado no emprego da EA, no qual o volume foi validado somente quando foi utilizado o diâmetro menor do fruto.

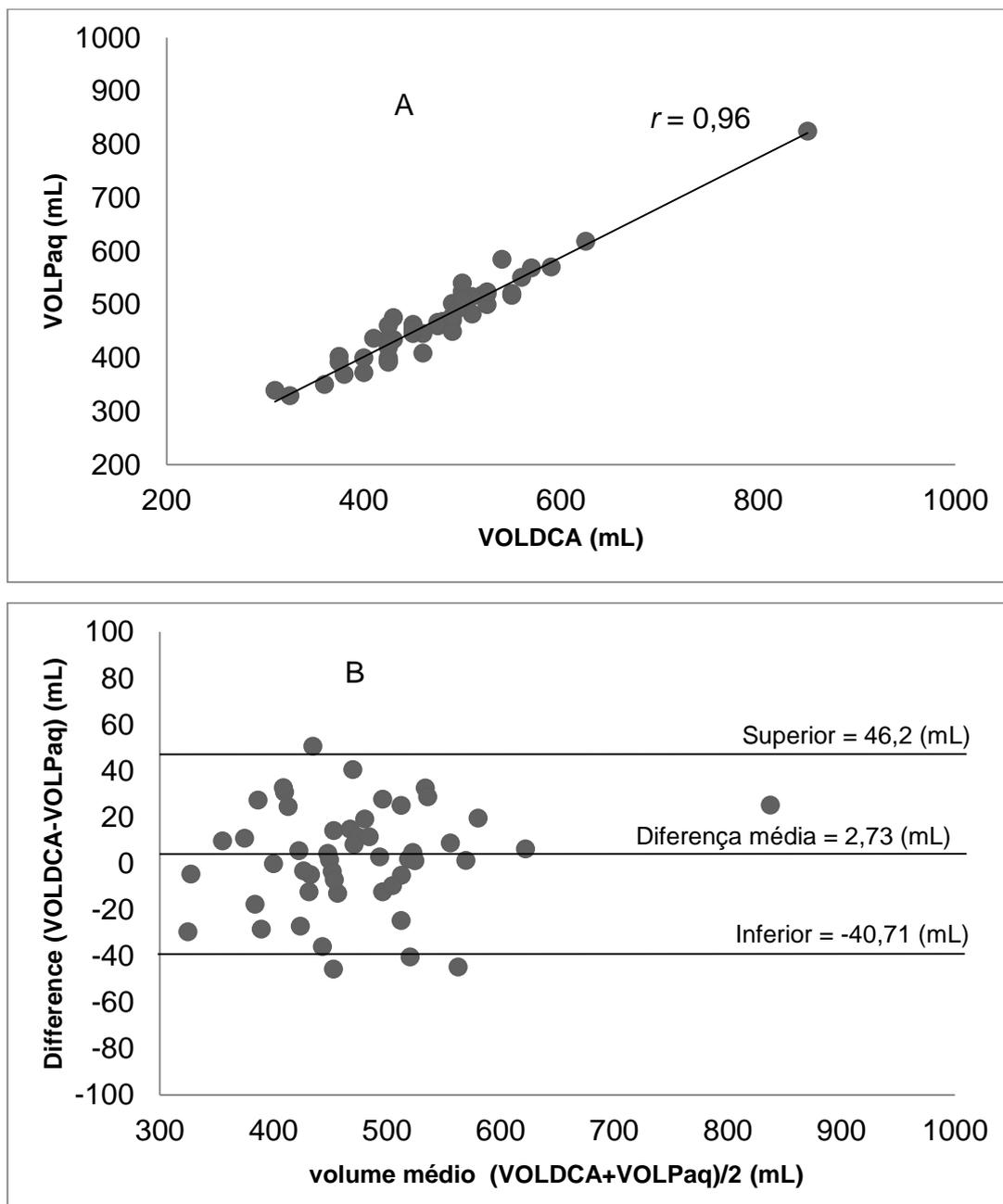


Figura 4 – (A) Correlação entre o volume estimado pelo método do deslocamento da coluna de água (DCA) e pela expressão de aproximação a um elipsoide (EA) utilizando dimensões obtidas com paquímetro (Paq). B) Gráfico Bland-Altman para comparação dos volumes de mamão mensurados pelo DCA e pela EA utilizando dimensões obtidas com paquímetro; as linhas externas indicam os limites (superior e inferior) de concordância e a linha central mostra a diferença média.

A correlação entre o volume calculado pelo DCA e a EA usando dimensões obtidas com PI foi alta ($r = 0,95$) (Figura 5A). A concordância Bland e Altman (1999) entre os dois métodos também foi observada quando apenas foi utilizado o diâmetro menor e o comprimento do fruto na expressão de aproximação. A diferença média entre o volume estimado usando PI e o DCA foi

de $dm = 6$ mL. O desvio padrão das diferenças de volume foi de $DP = 29,78$ mL. O volume do fruto de mamão mensurado a partir do DCA e o volume estimado pelo PI foi similar ($p > 0,05$) (Tabela 2). Os limites de 95% de concordância das diferenças entre os dois métodos foram $-64,4$ e $52,4$ mL (Figura 5B). Os volumes pela EA podem ser menores de $64,4$ mL ou $52,4$ mL mais elevados do que os volumes calculados pelo DCA.

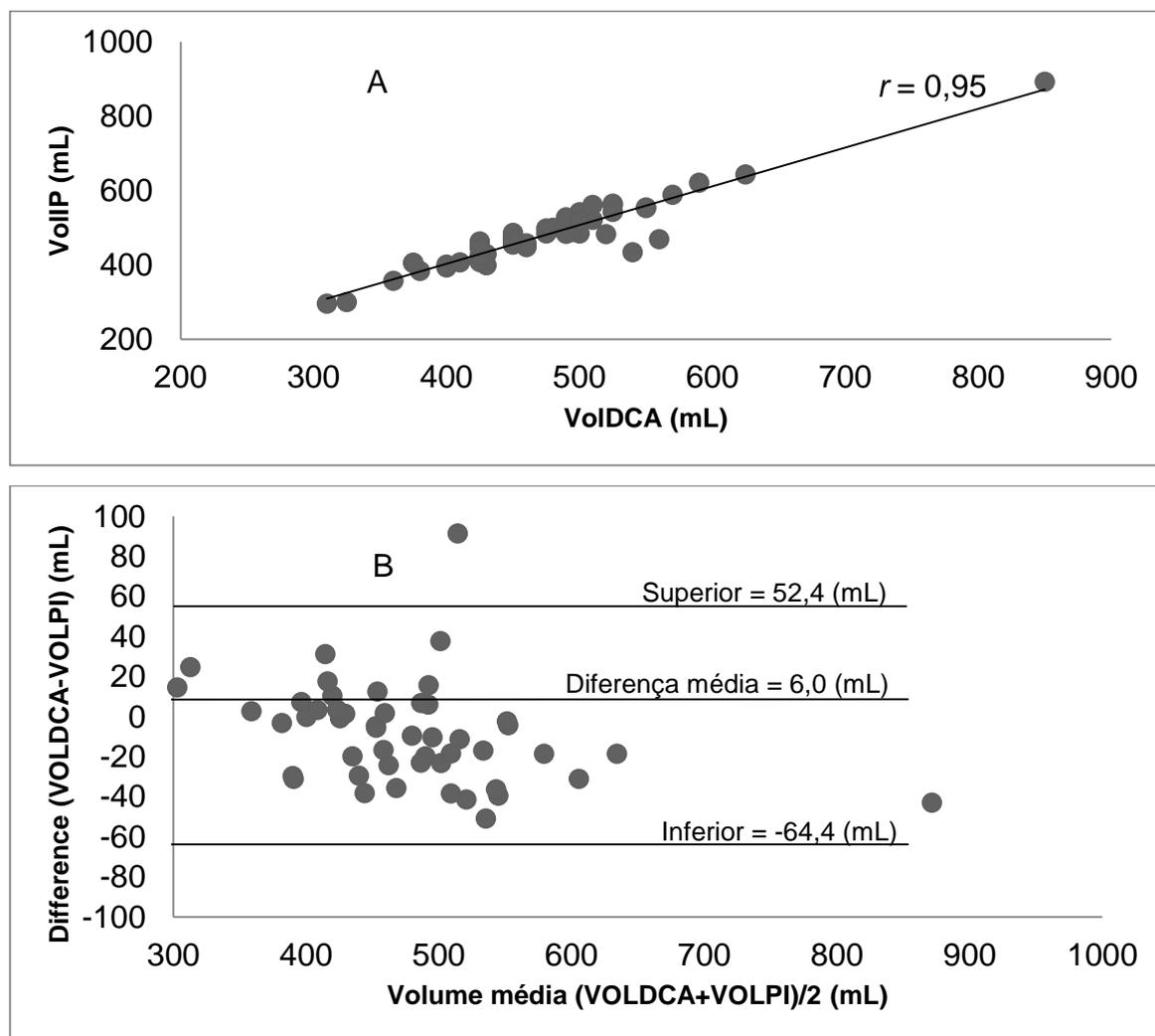


Figura 5 – (A) Correlação entre o volume estimado pelo método do deslocamento da coluna de água (DCA) e pela expressão de aproximação a um elipsoide (EA) utilizando dimensões obtidas pelo processamento de imagens digitais (PI). B) Gráfico Bland-Altman para comparação dos volumes de mamão mensurados pelo DCA e EA utilizando dimensões obtidas com PI; as linhas externas indicam os limites (superior e inferior) de concordância e a linha central mostra a diferença média.

A abordagem Bland e Altman (1999) tem sido empregada para validar o volume e a área de frutos utilizando análise e processamento de imagens digitais. Assim, tem sido empregada na validação de estimativa de volume de melancia

(Koc, 2007); laranja (Khojastehnazhand et al., 2009) e validação da área de aboborinha (Arjenaki et al., 2012).

Os erros de metodologia baseada em imagens digitais também podem ser devido ao emprego da EA, como foi evidenciado no volume estimado usando paquímetro. A precisão da expressão de aproximação diminui com os frutos que apresentaram formato irregular. A precisão do volume do fruto estimado através das dimensões obtidas pelo PI foi menor à observada usando as dimensões obtidas com paquímetro. Isto pode ser causado pela utilização de apenas uma câmera. Assim, como o aumento do tamanho do fruto a distância é alterada, resultando numa superestimação da estimativa do volume pelo PI. Embora a distância entre a câmera e a caixa de mensuração fosse constante, a distância entre a superfície do fruto e a câmera diminuiu com o aumento do tamanho do fruto.

Koc (2007) também atribuiu os erros da estimativa do volume pelo processamento de imagens à alteração da distância conforme aumentava o tamanho do fruto de melancia. De acordo com Khojastehnazhand et al. (2009), este problema pode ser contornado usando várias câmeras e desenvolvendo algoritmos mais complexos, de modo que possa ser reconstruída uma silhueta 3D do fruto. Recentemente métodos mais acurados como a simulação Monte Carlo tem sido empregados para estimar volume de frutos com formato irregular (Siswantoro et al. 2014).

A massa do fruto é uma característica muito importante para o melhoramento genético do mamoeiro devido a sua relação com a produção e utilização como padrão de qualidade dos frutos. A massa do fruto também é utilizada no monitoramento do desenvolvimento dos frutos em campo, predição do rendimento e estimativas nos níveis de adubação e irrigação, planejamento das atividades no *packing house*, no transporte e na comercialização (Sabliov et al., 2002; Koc, 2007). A massa do fruto pode ser determinada a partir do volume se a densidade do mesmo for conhecida. Neste estudo o volume dos frutos estimado pela EA usando mensurações realizadas com paquímetro e PI foi relacionado com a massa dos frutos. Pelos resultados pode-se observar que existe uma alta associação entre o volume e a massa em ambos os métodos, com $R^2 = 0,94$ usando mensurações com paquímetro e $R^2 = 0,87$ usando PI (Figura 6A e B). Da análise de regressão foram obtidas as equações:

$$M = 5,12 + 0,85 \text{ Vol}_{\text{Paq}} \quad (3)$$

e

$$M = 59,43 + 0,72 \text{ Vol}_{\text{PI}} \quad (4)$$

Em que:

M= massa em g;

Vol_{Paq} : volume em mL estimado usando paquímetro;

Vol_{PI} : volume em mL estimado usando processamento de imagens digitais.

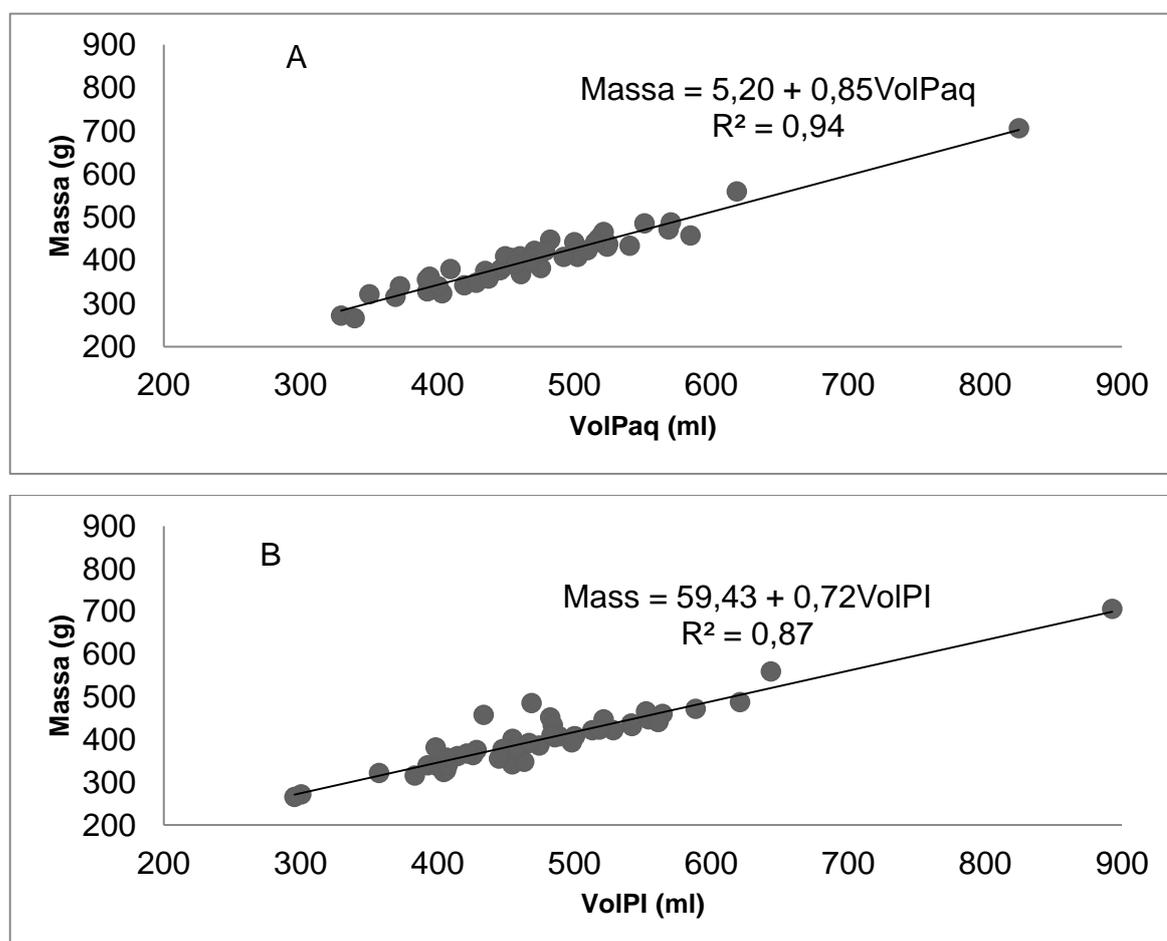


Figura 6 – Regressão entre os volumes estimados pela expressão de aproximação a um elipsoide (EA) e a massa do fruto. A) resultado para o volume estimado utilizando dimensões obtidas com paquímetro (Paq); B) resultado para o volume estimado utilizando dimensões obtidas pelo processamento de imagens (PI).

Assim, estas simples equações podem ser utilizadas para estimar a massa dos frutos de mamão a partir da estimacão do volume obtida pela EA usando paquímetro e PI. Em mamão, Riyadi et al. (2007) validaram uma metodologia de classificao de frutos com base na massa. A metodologia

envolveu a estimação do volume pelo processamento de imagens com uma equação de regressão ($R^2= 0,98$) para estimar a massa a partir do volume. A metodologia permitiu a classificação dos frutos com uma precisão de 90%. Por sua vez, Khojastehnazhand et al. (2009), em frutos de laranja observaram uma forte associação com $R^2= 0,96$ entre a massa e o volume dos frutos. Os autores obtiveram uma equação de regressão para estimar o peso do fruto a partir do volume obtido com o PI.

As metodologias baseadas em imagens digitais são ferramentas promissoras que podem ser utilizadas para assistir a fenotipagem de características de interesse na cultura do mamoeiro com boa precisão. As imagens são capturadas com câmera convencional a qual é simples, barata, facilmente manuseada e transportada. Além disso, as imagens podem ser armazenadas em computador para análises posteriores. Isso reduz a mão de obra e o tempo empregado nas mensurações em campo e laboratório aperfeiçoando o processo de fenotipagem. Por exemplo, neste estudo, dois avaliadores empregaram em média 96,8 s para estimar manualmente as características morfoagronômicas por planta, enquanto os mesmos avaliadores empregaram 15,8 s para capturar duas imagens por planta e 30 s para analisar as imagens. Em outras palavras, a metodologia de fenotipagem proposta é duas vezes mais rápida.

A expectativa é que as metodologias de fenotipagem baseadas em imagens digitais permitam ampliar os experimentos, realizar avaliações fenotípicas rápidas e precisas, contribuindo para incrementar o diferencial de seleção e o coeficiente de herdabilidade, com efeitos diretos nos ganhos genéticos. Quando estas metodologias foram aplicadas a populações de melhoramento, a quantificação precisa do fenótipo incrementou a proporção de variância devida aos efeitos genéticos e os ganhos genéticos com a seleção de genótipos superiores (Honsdorf et al., 2014; Parent et al., 2015; Pauli et al., 2016). Assim, podem ser utilizadas em diferentes fases de programas de melhoramento como avaliação de germoplasma, desenvolvimento de linhagens endogâmicas e ensaios de competição de cultivares. Além disso, a fenotipagem baseada em imagens pode ser utilizada para subsidiar estudos de seleção genômica ampla (GWS), genética de associação (GWAS) e seleção assistida por marcadores (MAS).

3.2.5 CONCLUSÕES

1. A metodologia baseada em análise de imagens digitais é uma ferramenta promissora que pode ser utilizada para assistir a fenotipagem de características morfoagronômicas na cultura do mamoeiro com boa precisão e pouca mão de obra.
2. O número de frutos comerciais pode ser estimado em lavouras comerciais de 'THB' e 'UENF/Caliman-01' sem perda de precisão experimental utilizando uma imagem.
3. O processamento de imagens permite mensurar as dimensões do fruto com precisão e rapidez contribuindo com maior agilidade e simplicidade na fenotipagem.
4. Experimentos formados por parcelas com poucas plantas ($k=2, 3$) a estimação do número de frutos comerciais pode ser realizada com duas imagens, por sua vez, experimentos com parcelas maiores ($k \geq 4$), esta característica pode ser avaliada empregando uma imagem.
4. O volume do fruto pode ser estimado usando a expressão de aproximação a um elipsoide empregando o diâmetro menor e o comprimento do fruto mensurado através de paquímetro e processamento de imagens.
5. Equações de regressão podem ser utilizadas para estimar a massa dos frutos de mamão a partir da estimação do volume obtida pela expressão de aproximação a um elipsoide usando paquímetro e processamento de imagens.

3.3 SELEÇÃO DE PROGÊNIES AGRONOMICAMENTE SUPERIORES F_{2:3} VIA PROCEDIMENTO REML/Blup

3.3.1 INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma das fruteiras de maior importância econômica nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo amplamente conhecido por seus benefícios nutricionais e propriedades farmacológicas (Oliveira e Vitória, 2011). Contudo, as áreas comerciais são formadas por um número reduzido de cultivares, o que resulta em restrita variabilidade genética (Dias et al., 2011). No Brasil, o programa de melhoramento genético do mamoeiro da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF vem sendo conduzido para tentar mudar essa situação. O principal objetivo deste programa é desenvolver cultivares adaptadas às diferentes regiões produtoras, que permitam proporcionar retornos econômicos aos agricultores e atender a demanda dos mercados interno e externo (Ramos et al., 2014a).

O desenvolvimento de cultivares depende de disponibilidade de variabilidade genética e da resposta simultânea favorável dos genótipos para a maioria das características de importância agrônoma. Para o melhoramento genético, a variabilidade genética disponível nas populações segregantes pode ser explorada para a identificação de genótipos transgressivos e desenvolvimento de linhagens para obtenção de cultivares tipo linha pura, ou como genitoras em programas de hibridação.

A identificação de genótipos superiores para várias características de importância no melhoramento genético pode ser realizada empregando um índice de seleção. Tal procedimento foi inicialmente proposto por Smith (1936) e Hazel (1943), com a finalidade de selecionar indivíduos para várias características simultaneamente. Diversos índices de seleção estão disponíveis para serem empregados no melhoramento genético, sendo construídos a partir de estimativas de parâmetros genéticos e de médias fenotípicas obtidas pela análise de variância, ou parâmetros e valores genéticos estimados pela metodologia dos modelos mistos (REML/Blup).

Considerando que o sucesso da seleção depende da variabilidade genética e da acurácia dos métodos de seleção, é importante o uso de metodologias que estimem os componentes de variância e permitam a previsão dos valores genéticos de indivíduos que sejam candidatos para a seleção (Resende, 2007). Um procedimento ótimo de avaliação genotípica refere-se ao componente da variância (REML) e valores genotípicos (BLUP) que utiliza a modelagem mista, proporcionando estimações e predições mais precisas de parâmetros genéticos e valores genéticos (Resende, 2006). Em mamoeiro a metodologia REML/Blup tem sido utilizada com sucesso para estimar parâmetros genéticos e selecionar genótipos superiores em populações F_2 (Oliveira et al., 2012) e em populações segregantes derivadas de gerações de retrocruzamento (Pinto et al., 2013; Ramos et al., 2014a). Esta metodologia tem mostrado contornar os problemas de desbalanceamento experimental rotineiros nas pesquisas com esta espécie.

De acordo com o exposto, o presente estudo teve por objetivos: avaliar o desempenho agrônomo de 30 progênies $F_{2:3}$ em relação a testemunhas; estimar parâmetros genéticos e obter os valores genéticos para características morfoagronômicas em progênies $F_{2:3}$ utilizando a metodologia REML/Blup; aplicar a seleção combinada, bem como a seleção direta empregando um índice baseado em valores genéticos padronizados; realizar a seleção das melhores progênies e, dentro destas, os melhores genótipos para avanço de geração e dar continuidade ao programa de melhoramento genético da UENF.

3.3.2 REVISÃO

3.3.2.1 Condução de populações segregantes e desenvolvimento de linhagens

A seleção de genótipos superiores depende da existência de variabilidade genética na população de trabalho e da resposta favorável simultânea para diversas características de importância agrônômica. Na ausência de variabilidade na população é preciso gerar variabilidade através de hibridações entre cruzamentos com genitores contrastantes para as características de interesse. Nas gerações segregantes derivadas dessas hibridações é possível selecionar linhagens superiores.

As etapas necessárias para o desenvolvimento de linhagens baseadas em hibridação consistem na obtenção da geração F_1 entre os genitores selecionados, a condução de populações segregantes, endogamia de indivíduos da população até atingir o nível de homozigose adequado, avaliação do desempenho das linhagens *per se* e seleção das linhagens superiores. Caso o objetivo seja o desenvolvimento de híbridos, as linhagens são avaliadas quanto a sua capacidade combinatória, avaliação dos híbridos e produção de sementes híbridas (Fehr, 1987).

As estratégias de melhoramento por hibridação diferem, principalmente, pela metodologia de avanço de gerações para fixar genótipos homozigotos no processo de desenvolvimento de linhagens endogâmicas superiores. O objetivo dos métodos de condução de populações segregantes é obter indivíduos altamente homozigotos através de sucessivas autofecundações (Bespalkov et al., 1999). Entre os métodos de condução de populações segregantes citam-se: Massal (*bulk*), genealógico (*pedigree*), descendente de única semente (SSD) e retrocruzamento.

O método de retrocruzamento tem sido amplamente empregado como estratégia para a obtenção de populações segregantes, com possibilidade de grande sucesso na seleção de indivíduos com elevado número de alelos favoráveis para determinada característica. Este método envolve uma série de cruzamentos da progênie de dois genótipos, com um dos genitores. O genótipo que participa apenas do cruzamento inicial é denominado de genitor doador e

aquele utilizado nos cruzamentos sucessivos o genitor recorrente. O objetivo é recuperar o genitor recorrente exceto para uma ou poucas características indesejadas (Allard, 1971). Este método pode originar uma população com considerável distância genética, possibilitando o desenvolvimento de progênies promissoras (Lorencetti et al., 2006). Além disso, permite a obtenção de populações com diferentes proporções do genitor recorrente variando de 50% (RC₁) a 98,4% (RC₅) de alelos do genitor recorrente, dependendo do número de gerações de retrocruzamento e da quantidade de genótipos utilizados para obtenção de populações segregantes (Allard, 1971).

O método de retrocruzamento tem sido utilizado no melhoramento genético do mamoeiro para transferência de regiões genômicas que controlam o hermafroditismo (Silva et al., 2007a) e tolerância à mancha fisiológica (Pinto et al., 2013). O programa de melhoramento genético de mamoeiro UENF/Caliman utilizou este método para conversão sexual do genótipo Cariflora, do estado dioico para o ginodioico. Silva et al. (2007a) iniciaram o referido estudo, realizando o cruzamento entre os genitores Cariflora x Sunrise Solo 783 e foram obtidas as gerações RC₁, RC₂ e RC₃ nas quais foram selecionados genótipos com elevada proporção do genitor recorrente (Cariflora). O avanço destas gerações derivadas de retrocruzamento foi realizado utilizando o método genealógico. A partir dessas gerações segregantes foram realizados vários estudos visando o desenvolvimento de linhagens superiores. Ramos et al. (2012) avaliaram a distância genética entre progênies derivadas das três gerações de retrocruzamento para selecionar genótipos superiores com elevada proporção do genitor Cariflora e distantes geneticamente para avanço de gerações por autofecundação. Ainda nestas progênies, foi realizada a seleção combinada das principais características agrônômicas para indicação de genótipos superiores, utilizando um índice de pesos baseado em valores genéticos estimados via procedimento REML/Blup (Ramos et al., 2014a). Com o objetivo de selecionar genótipos com elevada similaridade genética com o Cariflora, foi monitorada a proporção genética do genoma deste genitor através de marcadores SSR em progênies derivadas das gerações de retrocruzamento (Ramos et al., 2014b). Dando sequência ao programa de melhoramento, as linhagens selecionadas por Ramos et al. (2014a) foram avaliadas quanto a sua capacidade combinatória por meio de testadores do grupo Solo e Formosa (Santa Catarina, 2016; Barros et al.,

2017). A partir destes estudos foram obtidas combinações híbridas promissoras, com destaque para híbridos de fruto pequeno com elevado potencial de lançamento, suprimindo a demanda dos mercados nacional e internacional (Santa Catarina, 2016; Barros et al., 2017).

No programa de melhoramento UENF/Caliman também foi utilizado o método de retrocruzamento visando selecionar linhagens superiores com tolerância à mancha fisiológica. Inicialmente foi desenvolvida uma população segregante via retrocruzamento, objetivando a incorporação da característica de tolerância à mancha fisiológica nos genitores do híbrido 'UENF/Caliman-01'. A variedade 'Golden' foi utilizada como genitor doador. As linhagens superiores foram selecionadas utilizando o índice desenvolvido por Silva et al. (2008) e Ramos et al. (2014a) amparado nos valores genéticos obtidos via procedimento REML/Blup. Foram selecionadas linhagens superiores tolerantes à mancha fisiológica para avanço de geração de autofecundação e retrocruzamento (Pinto et al., 2013).

Um método muito utilizado na condução de populações segregantes é o genealógico ou *pedigree*. Neste método, os genótipos superiores são selecionados nas gerações segregantes, mantendo-se o registro entre genitores e progênies. A seleção é iniciada na geração F_2 em que são selecionados indivíduos superiores que permitam originar as melhores progênies. Nas gerações F_3 e F_4 , ainda existem muitos locos heterozigotos dentro das progênies e, portanto, é praticada a seleção das melhores plantas nas progênies superiores. Nas gerações F_5 ou F_6 espera-se que a maioria das progênies sejam homozigotas para a maioria dos locos, com 96% e 98%, respectivamente, sendo indicada a seleção apenas entre progênies. O mérito dos indivíduos selecionados é avaliado pelo teste de progênie, sendo praticada a seleção com base no genótipo das plantas (Allard, 1971).

Entre as vantagens do método genealógico citam-se: a seleção efetiva de genótipos inferiores descartados antes dos ensaios comparativos, seleção em várias gerações sobre diferentes ambientes permitindo a expressão de variabilidade genética de importantes características, a origem das linhas é conhecida maximizando a variabilidade genética entre as linhas durante a seleção, sendo apropriado para características com baixa herdabilidade. Além disso, uma das principais vantagens do método genealógico é permitir ao

melhorista exercitar sua habilidade de seleção, em grau mais elevado do que em qualquer um dos métodos usuais em espécies autógamas. Empregando este método foram desenvolvidas inúmeras cultivares de espécies autógamas, por exemplo, mamona (Savy Filho et al., 2007), trigo (Scheeren et al., 2007), feijão (Carbonell et al., 2010), soja (Miranda et al., 2003).

O método genealógico foi utilizado neste estudo devido à seleção ser praticada com teste de progênie, e o conhecimento da genealogia dos genótipos selecionados permitiu maximizar a eficiência da seleção.

3.3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.3.1 Material genético

Foram avaliadas 30 progênies $F_{2:3}$ derivadas da autofecundação de indivíduos agronomicamente superiores selecionados de uma população F_2 (Tabela 1). Esta população foi derivada do cruzamento entre os genitores Sekati e JS12. O processo de avaliação e seleção destes indivíduos foi descrito anteriormente no primeiro capítulo. Também foram incluídas no presente estudo quatro testemunhas, sendo elas: a variedade 'Golden', o híbrido 'Tainung-01', e os genitores Sekati e JS12.

3.3.3.2 Local e delineamento experimental

O experimento foi estabelecido em abril de 2014 na área experimental da empresa Caliman Agrícola S/A, localizada no município de Linhares, Espírito Santo. Foi utilizado o delineamento experimental em blocos completos casualizados com 34 tratamentos, quatro blocos e oito plantas por parcela. As plântulas foram plantadas mantendo um espaçamento de 3,60 m entre fileira e de 1,50 m entre plantas na fileira. Foram plantadas três mudas por cova, sendo realizada a sexagem das plantas após três meses de plantio mantendo apenas as plantas hermafroditas. Os tratos culturais utilizados foram os mesmos adotados pela empresa Caliman Agrícola S/A nas lavouras comerciais.

Tabela 1. Descrição dos genótipos utilizados no estudo

Tratamento	Identificação	Tratamento	Identificação
1	145	18	71S
2	47	19	379
3	143	20	183
4	39S	21	106
5	201	22	98
6	43	23	149
7	101	24	211
8	87S	25	322
9	141	26	3
10	79	27	23S
11	23	28	105
12	48S	29	189
13	89S	30	65
14	9	31	JS12
15	88	32	Tainung-01
16	333	33	Sekati
17	25	34	Golden

Tratamentos de 1 a 30 correspondem às progênies $F_{2:3}$ derivadas da autofecundação de 30 indivíduos superiores de uma população F_2 . Tratamentos 31 a 34 são as testemunhas.

3.3.3.3 Características avaliadas

Um total de 14 características morfoagronômicas foi avaliado no presente estudo: altura da planta (AP) em cm; altura de inserção do primeiro fruto (AIPF) em cm; diâmetro do caule (DC) em mm; número de frutos comerciais (NFC); número de frutos deformados (NFD): determinado pela contagem de frutos carpelóides e pentândricos; número de nós sem fruto (NSF); massa média de fruto (MF) em kg; produção por planta (Prod) em kg; comprimento de fruto (CF) em mm; diâmetro do fruto (DF) em mm; teor de sólidos solúveis (TSS) em °Brix; firmeza do fruto (FF) em N; firmeza da polpa (FP) em N e espessura da polpa (EP) em cm. Foram realizadas duas avaliações de campo, a primeira aos seis meses após o transplante e a segunda aos nove meses após o transplante. Foi realizada uma avaliação de laboratório das características associadas à qualidade de fruto.

As características AP, DC, NFC, NFD e NSF foram avaliadas empregando a metodologia baseada em análise de imagens. Esta metodologia foi validada em experimento empregando a variedade 'THB' e o híbrido 'UENF/Caliman-01', conforme descrito no capítulo 2. Assim, cada planta foi fotografada em duas

posições diferentes, uma perpendicular à planta (Imagem A) considerando o eixo da fileira e outra pelo lado oposto da mesma planta utilizada na imagem A. As fotos foram obtidas mantendo uma distância de 2,5 m da fileira à planta. A imagem A foi utilizada para mensurar as características: AP expressa em m e DC expressa em mm. Por sua vez, duas imagens (imagem A + Imagem B) foram utilizadas para estimar: NFC, NFD, NSF.

As imagens foram analisadas com auxílio do software de domínio público ImageJ. Em cada planta fotografada foi colocada uma régua como medida de referência para realizar a calibração das dimensões da imagem pela função *set scale* do *software*. Após a calibração foram mensuradas as características AP e DC empregando a ferramenta seleção de linha reta. As características NFC, NSF e NFD foram estimadas utilizando o *plugin Cell Counter*.

As características avaliadas em laboratório foram mensuradas conforme descrito por Silva et al.(2008) e Ramos et al.(2014a).

3.3.3.4 Análise estatística

3.3.3.4.1 Ensaio de competição de progênies e testemunhas

Inicialmente, foram utilizadas as médias das progênies, sem considerar a informação de planta dentro de parcela com o intuito de comparar o desempenho das progênies em relação às testemunhas. Para tanto, as variáveis foram submetidas à análise de variância, de acordo com o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + P_k + T_l + (P \times T)_{kl} + b_j + e_{ijkl}$$

Em que:

Y_{ijk} = valor observado, referente ao i-ésimo genótipo no j-ésimo bloco;

μ = Constante geral;

b_j = efeito do j-ésimo bloco \sim NID $(0, \sigma_b^2)$;

G_i = efeito fixo do i-ésimo genótipo;

P_k = efeito fixo da k-ésima progênie;

T_l = efeito fixo da l-ésima testemunha;

e_{ijkl} = erro experimental \sim NID $(0, \sigma^2)$.

Em seguida, as médias foram ordenadas pelo critério de agrupamento de Skott – Knot, a 5% de probabilidade.

Na tabela 1 é apresentado o esquema da análise de variância, com as respectivas esperanças dos quadrados médios, sendo considerado fixo o efeito de genótipo.

Tabela 1. Esquema da análise de variância aplicada às características avaliadas, com as respectivas esperanças dos quadrados médios.

FV	GL	QM	EQM	F
Bloco	(b-1)	QMB	$\sigma^2 + g \sigma^2 B$	QMB/QMR
Genótipo	(g-1)	QMG	$\sigma^2 + b\phi^2 G$	QMG/QMR
Progênie (P)	(p-1)	QMP	$\sigma^2 + b\phi^2 P$	QMP/QMR
Testemunhas (T)	(t-1)	QMT	$\sigma^2 + b\phi^2 T$	QMT/QMR
P x T	1	QMPT	$\sigma^2 + b\phi^2 PT$	QMPT/QMR
Resíduo	(g-1)(b-1)	QMR	σ^2	
Total	(gb) - 1			

b= número de blocos; g= número de genótipos; p= número de progênie; t= número de testemunhas.

3.3.3.4.2 Análise estatística e genética via REML/Blup

Para esta análise somente foram consideradas as progênie, sendo as características analisadas, via REML/Blup considerando o delineamento em blocos completos casualizados, com informação de plantas dentro de parcelas.

A avaliação genética foi realizada utilizando o seguinte modelo estatístico:

$$y = Xb + Za + Wp + \varepsilon$$

Em que:

y é o vetor de observações;

b é o vetor dos efeitos de bloco (assumidos como fixos) somados à média geral;

a é o vetor dos efeitos genéticos aditivos individuais (assumidos como aleatórios);

p é o vetor dos efeitos de parcela;

ε é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios).

As letras maiúsculas (X , Z e W) representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

As distribuições e estruturas de variância associadas aos termos do modelo são dadas por:

$$y | b, V \sim N(Xb, V)$$

$$a | A\sigma_a^2 \sim N(0, A\sigma_a^2)$$

$$p | \sigma_p^2 \sim N(0, I\sigma_p^2)$$

$$\varepsilon | \sigma_\varepsilon^2 \sim N(0, I\sigma_\varepsilon^2)$$

Entre os efeitos aleatórios são dados por:

$$\text{Cov}(a, c') = 0; \text{Cov}(a, e') = 0; \text{Cov}(c, e') = 0.$$

As estruturas de variâncias do modelo são dadas por: $V = ZA\sigma_a^2Z' + W\sigma_c^2W' + I\sigma_\varepsilon^2$, em que A é a matriz de parentesco genética aditiva envolvendo todos os indivíduos.

As equações do modelo misto para estimar os efeitos fixos e prever os efeitos aleatórios pelo procedimento Blup, descrito por Resende (2002) são dados por:

$$\begin{bmatrix} \hat{b} \\ \hat{a} \\ \hat{c} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} X'X & & X'Z & & & & X'W \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}((1 - h^2 - c^2)/(h^2)) & & & & & Z'W \\ W'X & & W'Z & & & & W'W + I^{-1}((1 - h^2 - c^2)/(c^2)) \end{bmatrix}^{-1} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \\ W'y \end{bmatrix}$$

Em que:

$\hat{h}^2 = \hat{\sigma}_a^2/\hat{\sigma}_a^2 + \hat{\sigma}_c^2 + \hat{\sigma}_e^2$: herdabilidade individual no sentido restrito no bloco;
 $\hat{\sigma}_a^2$ = variância genética aditiva; $\hat{\sigma}_c^2$ = variância entre parcelas; $\hat{\sigma}_e^2$ = variância residual (ambiental + não aditiva); $c^2 = \hat{\sigma}_c^2/\hat{\sigma}_a^2 + \hat{\sigma}_c^2 + \hat{\sigma}_e^2$ correlação devida ao ambiente comum entre parcelas;

Os estimadores dos componentes de variância via algoritmo EM são dados por:

$$\hat{\sigma}_e^2 = [y'y - \hat{b}'X'y - \hat{a}'Z'y - \hat{c}'W'y]/[N - r(X)]$$

$$\hat{\sigma}_a^2 = [\hat{a}'A^{-1}\hat{a} + \sigma_e^2 \text{tr}(A^{-1}C^{22})]/q$$

$$\hat{\sigma}_c^2 = [\hat{c}'c + \sigma_e^2 \text{tr}(C^{33})]/s$$

Em que:

C^{22} e C^{33} advém de:

$$C^{-1} = \begin{bmatrix} C_{11} & C_{12} & C_{13} \\ C_{21} & C_{22} & C_{23} \\ C_{31} & C_{32} & C_{33} \end{bmatrix}^{-1} = \begin{bmatrix} C^{11} & C^{12} & C^{13} \\ C^{21} & C^{22} & C^{23} \\ C^{31} & C^{32} & C^{33} \end{bmatrix}$$

C = matriz dos coeficientes das equações de modelo misto;

tr = operador de traço matricial dado pela soma dos elementos da diagonal da matriz.

$r(X)$: Posto ou número de colunas linearmente independentes de X .

N, q, s = número total de observações, número de indivíduos e número de parcelas, respectivamente.

Também foram estimados as seguintes variâncias e parâmetros genéticos por meio das seguintes estimativas, conforme apresentado por Viana e Resende (2014):

Variância fenotípica individual:

$$\hat{\sigma}_f^2 = (\hat{\sigma}_a^2 + \hat{\sigma}_c^2 + \hat{\sigma}_e^2);$$

Estimativa da herdabilidade individual no sentido restrito entre progênes, ajustada para os efeitos de parcela:

$$\hat{h}_{aj}^2 = \hat{\sigma}_a^2 / \hat{\sigma}_a^2 + \hat{\sigma}_e^2;$$

Estimativa da herdabilidade da média de progênes, assumindo sobrevivência completa:

$\hat{h}_m^2 = \hat{\sigma}_a^2 / \left[\hat{\sigma}_a^2 + \frac{1}{4} \hat{\sigma}_c^2 + \left(\frac{1}{2} \hat{\sigma}_a^2 + \hat{\sigma}_e^2 / 32 \right) \right]$ Em que: Quatro é o número de blocos, e 32 é o número de blocos multiplicado pelo número de plantas por parcela (oito);

Estimativa da acurácia da seleção de progênes, assumindo sobrevivência completa:

$$Ac = \sqrt{\hat{h}_m^2};$$

Estimativa da herdabilidade aditiva dentro de parcela, desde que ignorada a fração (1/4) da variância genética de dominância:

$$\hat{h}_{ad}^2 = \frac{1}{2} \hat{\sigma}_a^2 / \left(\frac{1}{2} \hat{\sigma}_a^2 + \hat{\sigma}_e^2 \right);$$

Estimativa do coeficiente de variação genética aditiva individual, ignorando-se a fração (1/4) da variância genética de dominância:

$$CVg = 100\sqrt{\hat{\sigma}_a^2}/\hat{m};$$

Estimativa do coeficiente de variação residual: $CVe = \left(100\sqrt{\hat{\sigma}_a^2 + \frac{1}{8}\hat{\sigma}_e^2 + \hat{\sigma}_c^2}\right)/\hat{m};$

Estimativa do coeficiente de variação relativa: $CVr = Cvg/Cve;$

Estimativa da variância do erro de predição dos valores genotípicos de progênes, assumindo sobrevivência completa:

$$PEV = (1 - Ac^2)\hat{\sigma}_a^2;$$

Estimativa do desvio padrão do valor genotípico predito de progênes, assumindo sobrevivência completa:

$$SEP = \sqrt{PEV}.$$

As análises foram realizadas utilizando o modelo 59 do *software* Selegen-REML/Blup (Resende, 2016). Este modelo é designado para avaliação genética de indivíduos em progênes F_3 de plantas autógamas derivadas de população F_2 . Os dados foram analisados via REML/Blup com a finalidade de explorar a variância genética dentro de progênes, avaliando várias plantas por parcela. Além disso, o desbalanceamento experimental, observado neste estudo, decorrente da perda de plantas produzida pelo vírus do mosaico do mamoeiro (*Papaya Ringspot Virus*), inviabilizou a avaliação das características via análise de variância.

Tanto a herdabilidade entre progênes quanto a herdabilidade dentro de progênes estão inflacionadas pela fração (1/4) da variância genética de dominância. Isto não deverá afetar a seleção de indivíduos, visto que as duas herdabilidades são utilizadas no cômputo dos valores genéticos (Resende, 2006).

Os valores genotípicos de todas as progênes estimados pelo Blup foram obtidos pela soma de cada efeito genotípico (g) à média geral do experimento (μ). O ganho genético equivale à média dos vetores dos efeitos genéticos preditos para as progênes selecionadas. A média das progênes selecionadas foi obtida pela soma da média geral ao ganho genético.

3.3.3. 4.4. Seleção de progênes superiores

A seleção combinada das 14 características foi efetuada utilizando o índice de pesos (IG₂) desenvolvido para a seleção de progênes no mamoeiro conforme Ramos et al. (2014a). A seleção combinada foi realizada com base na planta, para identificação dos melhores genótipos e na média das progênes, para selecionar as superiores. Foi praticada uma intensidade de seleção de 20% para indicar as melhores progênes, e de 20% para seleção dos melhores genótipos dentro das progênes selecionadas.

3.3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.4.1 Ensaio de competição Progênes versus testemunhas

Na tabela 2 encontra-se o resumo da análise de variância com os quadrados médios para as 14 características avaliadas. Verifica-se que para a fonte de variação genótipo houve diferenças significativas para todas as características, sendo que com exceção de altura de inserção do primeiro fruto (AIPF) e o diâmetro do fruto (DF) houve diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade. Estes resultados indicam a existência de variabilidade genética entre os genótipos para todas as características avaliadas. Após verificar a existência de significância entre genótipos, realizou-se o desdobramento da fonte genótipo em progênes, testemunhas e o contraste progênes x testemunhas. Vê-se que com exceção de AIPF, DF, firmeza do fruto (FF) e firmeza da polpa (FP), as demais características apresentaram diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade entre as progênes. Verifica-se a existência de expressiva variabilidade genética entre as progênes para a maioria das características avaliadas, com destaque para produção (Prod) e teor de sólidos solúveis (TSS), as quais têm grande relevância no melhoramento genético da cultura. Para as testemunhas houve diferenças significativas para todas as características, sendo que com exceção da Prod as restantes características apresentaram diferenças ao nível de 1% de probabilidade. Verifica-se que no contraste progênes x

testemunhas não houve diferenças significativas para as características AIPF, DF, TSS, PROD, diâmetro do caule (DC) e número de frutos deformados (NFD). A ausência de efeito significativo pode estar associada ao reduzido número de graus de liberdade que são perdidos com o desdobrando da fonte genótipo limitando as possibilidades de o contraste ter efeito maior do que o resíduo. Já para as restantes características houve diferenças significativas no contraste indicando a existência de expressiva variabilidade genética entre as progênes e testemunhas. Além disso, a presença de efeito significativo indica que existe diferença significativa nas médias de pelo menos uma progênie e uma testemunha.

O coeficiente de variação experimental (Cve) foi baixo ($Cve \leq 10$) para as características AP, DC, CF, FF, FP, TSS e espessura da polpa (EP). Valores médios ($11 \leq Cve \leq 20$) foram obtidos nas características AIPF, Massa, e DF. Valores altos ($21 \leq Cve \leq 30$) foram observados nas características NFC e número de nós sem fruto (NSF) e muito altos ($Cve > 31$) foram obtidos nas características PROD e número de frutos deformados (NFD). As características que apresentaram magnitudes elevadas de Cve podem estar associadas com elevada influência ambiental que resulta em alta dispersão dos dados e alto erro experimental.

Tabela 2. Resumo da análise de variância para 14 características morfoagronômicas em genótipos de mamoeiro. Linhares, ES, 2015.

Fonte de Variação	GL	Quadrado médio					
		AIPF	AP	DC	NFC	NFD	NSF
Bloco	3	568,80	455,31	5,23	85,10	8,63	39,86
Genótipo	33	188,90*	1224,16**	2,26**	211,88**	7,55**	69,21**
Progênie (P)	29	98,08 ^{ns}	818,66**	2,13**	107,06**	5,92**	63,67**
Testemunhas (T)	3	935,80**	4796,03**	3,81**	682,16**	25,82**	77,66**
P x T	1	581,30 ^{ns}	2268,01**	1,54 ^{ns}	1840,77**	0,27 ^{ns}	204,39**
Resíduo	99	105,90	254,24	0,64	27,57	2,99	17,74
Média geral		64,03	172,83	10,68	21,18	3,54	14,31
Média Progênie		63,18	171,70	10,70	19,70	3,53	14,83
Média Testemunhas		69,67	184,05	10,35	31,23	3,61	10,90
Cve (%)		16,07	9,23	7,52	24,79	48,79	29,43

AIPF: altura de inserção do primeiro fruto (cm); AP: altura da planta (cm); DC: diâmetro do caule (cm); NFC: número de frutos comerciais; NFD: número de frutos deformados; NSF: nós sem fruto; MF: Massa média de fruto (g); CF: comprimento do fruto (mm); DF: diâmetro do fruto (mm); EP: espessura da polpa (cm); FF: firmeza do fruto (N); FP: firmeza da polpa (N), TSS: teor de sólidos solúveis (°Brix); PROD: produção por planta (kg). * e **: Significativo, em nível de 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Cve: coeficiente de variação experimental.

Tabela 2. Cont.

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio							
		MF	CF	DF	EP	FF	FP	TSS	PROD
Bloco	3	94445,61	2319,82	1697,64	0,01	1237,66	745,41	0,93	435,53
Genótipo	33	572675,85**	4357,45**	618,36*	0,24**	93,91**	57,5**	1,60**	344,39**
Progênes (P)	29	406797,00**	2562,84**	358,31 ^{ns}	0,16**	46,15 ^{ns}	39,74 ^{ns}	1,65**	344,66**
Testemunhas (T)	3	1393877,39**	15777,52**	3285,15**	0,85**	180,58**	127,67**	1,59**	456,47*
P x T	1	2919557,89**	22140,81**	159,56 ^{ns}	0,69**	1219,08**	362,01**	0,04 ^{ns}	0,25 ^{ns}
Resíduo	99	60526,04	298,28	392,39	0,04	31,77	29,87	0,38	138,89
Média geral		1663,29	248,81	119,99	2,77	107,09	81,61	7,58	33,92
Média Progênes		1717,78	253,95	120,34	2,79	108,22	82,36	7,58	33,77
Média Testemunhas		1262,12	213,82	116,92	2,58	98,92	77,28	7,51	33,90
Cve (%)		14,79	6,94	16,51	6,76	5,26	6,70	8,12	34,75

MF: Massa média de fruto (g); CF: comprimento do fruto (mm); DF: diâmetro do fruto (mm); EP: espessura da polpa (cm); FF: firmeza do fruto (N); FP: firmeza da polpa (N), TSS: teor de sólidos solúveis (°Brix); PROD: produção por planta (kg). * e **Significativo, em nível de 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Cve: coeficiente de variação experimental.

3.3.4.2 Agrupamento de médias pelo critério de Skott - Knott

As médias estimadas das características AP, NFC, NSF, Massa, CF, EP, FF e FP avaliadas nos 34 tratamentos encontram-se na tabela 3. Verifica-se que para a característica AP foram formados quatro grupos pelo critério de agrupamento de Skott-Knott. O primeiro grupo indicado pela letra a, engloba os tratamentos que apresentaram as maiores alturas de plantas, sendo formado por seis progênies e duas testemunhas ('Tainung-01' e 'Golden') com médias variando de 188,19 a 214,12 cm. O segundo grupo foi formado por 12 tratamentos (11 progênies e a testemunha JS12), que apresentaram médias variando de 171,53 a 183,53 cm. Já o terceiro grupo foi formado por oito progênies que apresentaram médias variando de 158,61 a 169,90 cm. O quarto grupo foi formado por seis tratamentos (cinco progênies e a testemunha Sekati) que apresentaram as plantas mais baixas com médias variando de 136,43 a 154,23 cm.

Quanto à característica NFC, foram formados quatro grupos, sendo o primeiro grupo formado somente pela testemunha 'Golden' com média de 50,54 frutos. A cultivar 'Golden' é uma variedade do grupo heterótico Solo caracterizada por apresentar plantas altamente produtivas. Diferentes estudos têm mostrado que representantes do grupo Solo apresentam plantas com maior produção de frutos em comparação aos representantes do grupo Formosa, situação evidenciada também neste estudo, em que o único representante do grupo Solo avaliado apresentou plantas mais produtivas do que os demais tratamentos. O segundo grupo foi formado por 10 progênies e três testemunhas ('Tainung-01', Sekati e JS12), as quais apresentaram médias variando de 22,59 a 29,57 frutos por planta. Percebe-se que as 10 progênies alocadas neste grupo possibilita selecionar linhagens com desempenhos similares às testemunhas quanto à produção de frutos com padrão comercial. O terceiro grupo foi formado por 15 progênies que apresentaram médias variando de 15,46 a 21,60 frutos. O quarto grupo foi formado por cinco progênies, com médias variando de 9,08 a 14,33 frutos, apresentando as médias mais baixas entre os tratamentos avaliados.

Tabela 3. Médias estimadas de oito características morfoagronômicas avaliadas em 30 progênies F_{2:3} e quatro testemunhas ('Tainung-01', 'Golden', JS12 e Sekati) de mamoeiro

AP		NFC		MF	
Trata	Média	Trata	Média	Trata	Média
32	214,12a	34	50,54a	22	2421,30a
34	204,47a	9	29,57b	6	2266,15a
15	195,66a	14	29,16b	8	2201,05a
14	195,07a	21	28,40b	10	2125,24a
28	191,95a	32	27,85b	4	2033,96b
20	191,76a	5	27,56b	11	1953,45b
5	189,63a	16	24,92b	28	1926,51b
27	188,19a	6	24,38b	15	1909,42b
10	183,53b	29	23,79b	2	1903,40b
31	181,20b	20	23,78b	3	1880,18b
3	181,06b	33	23,77b	16	1843,60b
19	178,15b	12	22,98b	14	1814,27b
2	176,72b	31	22,77b	23	1810,30b
6	175,52b	13	22,59b	27	1806,45b
23	174,86b	18	21,60c	24	1725,62b
16	174,75b	25	20,73c	30	1716,4b
7	174,58b	19	20,60c	18	1672,26c
30	173,94b	26	19,74c	20	1604,50c
22	173,54b	23	18,93c	32	1587,98c
17	171,58b	24	18,72c	5	1584,06c
26	169,90c	17	18,61c	19	1580,15c
1	169,24c	10	18,39c	17	1567,19c
9	168,47c	8	18,27c	12	1548,91c
25	165,89c	3	17,71c	33	1542,70c
13	163,21c	28	17,27c	31	1540,54c
8	161,88c	2	16,93c	9	1538,24c
4	160,15c	4	16,67c	13	1455,40c
24	158,61c	30	15,48c	25	1423,55c
12	154,23d	1	15,46c	29	1402,13c
18	152,88d	11	14,33d	7	1342,24c
21	148,65d	7	13,43d	21	1340,83c
11	147,42d	15	12,37d	26	1097,15d
29	139,87d	22	9,61d	1	1039,66d
33	136,43d	27	9,08d	34	377,26e

AP: altura da planta; NFC: número de frutos comerciais; MF: massa média do fruto.

Tabela 3. Cont.

CF		EP		FF	
Trata	Média	Trata	Média	Trata	Média
22	297,23a	22	3,13a	8	114,21a
11	294,88a	2	3,08a	12	114,17a
8	291,51a	15	3,04a	24	112,39a
10	288,17a	8	2,96a	18	112,09a
6	282,50a	6	2,95a	11	111,82a
4	281,31a	23	2,94a	19	111,39a
3	279,55a	28	2,93a	30	110,99a
31	271,00b	21	2,93a	3	110,99a
28	270,82b	29	2,91a	15	110,97a
9	269,83b	24	2,89a	5	110,12a
20	266,95b	30	2,88a	10	110,00a
18	266,81b	33	2,87a	4	109,88a
23	266,49b	3	2,87a	1	109,29a
27	263,42b	16	2,85a	13	109,28a
16	256,28b	12	2,85a	23	108,58a
2	253,14b	32	2,83a	31	107,69a
7	251,44b	11	2,81a	20	107,69a
5	250,31b	10	2,81a	2	107,53a
25	246,71c	9	2,81a	22	107,47a
30	241,61c	4	2,81a	17	107,27a
19	241,05c	17	2,80a	26	106,94a
15	240,93c	18	2,76a	6	106,13a
14	239,67c	13	2,73a	14	106,11a
1	233,24c	31	2,72a	28	106,10a
33	231,09c	19	2,71a	29	105,28b
32	229,01c	5	2,71a	25	104,41b
12	226,61c	20	2,67a	27	104,24b
17	224,16c	14	2,66a	9	103,81b
13	224,13c	25	2,64a	7	103,64b
29	223,41c	27	2,58a	16	103,01b
26	222,64c	26	2,45b	21	100,94b
24	222,37c	7	2,43b	32	100,68b
21	201,30c	1	2,15c	33	93,75c
34	124,18d	34	1,89c	34	93,56c

CF: comprimento do fruto; EP: espessura da polpa; FF: firmeza do fruto.

Em relação à massa de fruto (MF), foram formados cinco grupos. O primeiro grupo engloba os tratamentos que apresentaram frutos de maior tamanho, sendo formado por quatro progênes com médias variando de 2125 a 2421,3 g. O segundo grupo reuniu 12 progênes apresentando médias variando de 1716,4 a 2033,96 g. O terceiro grupo foi formado por 12 progênes e três testemunhas ('Tainung-01', JS12 e Sekati), com médias variando de 1340,83 a 1672,26 g. O quarto grupo foi formado pelas progênes 1 e 26, com médias de 1039,66 a 1097,15 g, respectivamente. O quinto grupo foi formado pela cultivar 'Golden' com média de 377,26 g, resultado esperado uma vez que este genótipo apresenta frutos pequenos padrão Solo. Verifica-se que a formação de cinco grupos, representa um leque de possibilidades quanto a tamanho de frutos para seleção praticada entre as progênes, com implicações positivas para o melhoramento e para os mercados nacional e internacional. Assim, possibilita produzir frutos variando de 1500 a 2000 g para atender a demanda de frutos grandes e oferecer uma alternativa aos produtores que utilizam o híbrido 'Tainung-01'. Já frutos entre 1000 a 1400 g oferecem uma alternativa para explorar novos mercados. Além disso, o leque de tamanhos oferece uma boa alternativa para escolha de genitores em programas de obtenção de híbridos.

Quanto à característica CF, foram formados quatro grupos. O primeiro grupo reuniu sete progênes que apresentaram médias variando de 279,55 a 297,23 mm. O segundo grupo foi formado por 10 progênes e o genitor JS12, com médias variando de 250,31 a 271 mm. Já o terceiro grupo foi formado por treze progênes e duas testemunhas (Sekati e 'Tainung-01'), apresentando médias entre 201,30 e 246,71 mm. O quarto foi formado pela cultivar 'Golden' que apresentou média de 124,18 mm. Uma vez que o comprimento do fruto está associado ao tamanho do fruto, a formação de quatro grupos, mostra que entre as progênes existe variabilidade genética para esta característica. O comprimento do fruto é uma característica ligada à qualidade do fruto, uma vez que dá ideia do tamanho do fruto, sendo utilizada como critério para classificar os frutos no *Packing house*.

Em relação à espessura da polpa, três grupos foram formados. O primeiro grupo reuniu a maioria dos tratamentos, com 29 progênes e três testemunhas (JS12, 'Tainung-01' e Sekati) apresentando médias variando de 2,58 a 3,13 cm. O segundo grupo foi formado pelas progênes 1 e 7, com médias de 2,15 e 2,43 cm,

respectivamente. O terceiro grupo foi formado pela cultivar 'Golden'. A espessura da polpa é uma característica muito importante para a qualidade de frutos, uma vez que é atraente ao consumidor e possibilita maior proteção contra choque mecânico.

Quanto à firmeza do fruto, foram formados três grupos. O primeiro grupo reuniu 24 progênies com médias variando de 106,10 a 114,21 N. O segundo grupo foi formado por sete progênies e o híbrido 'Tainung-01', com médias variando de 100,68 a 105,28 N. Já o terceiro grupo foi formado pelas testemunhas Sekati e 'Golden'. Verifica-se que a maioria das progênies apresentou firmezas maiores às obtidas nas testemunhas, o que possibilita o desenvolvimento de genótipos com médias superiores aos apresentados nos materiais genéticos de referência para esta característica de grande importância no melhoramento da cultura. A firmeza da fruta está associada ao estágio de maturação, sendo um dos principais atributos relacionados à qualidade de frutos de mamão uma vez que frutas com baixa firmeza mostram menor resistência ao transporte, armazenamento e manipulação, portanto, menor aceitação pelos consumidores (Fagundes e Yamanishi, 2001).

Estes resultados mostram o potencial agrônomico das progênies em relação às testemunhas. Destaca-se que várias progênies apresentaram desempenhos superiores ao híbrido 'Tainung-01' para características de grande importância para o melhoramento da cultura como firmeza do fruto, massa do fruto e comprimento do fruto. Também várias progênies apresentaram médias similares para características de relevância para a cultura como produção, número de frutos comerciais, teor de sólidos solúveis, espessura da polpa e firmeza da polpa. Ressalta-se ainda o potencial genético destas progênies que apesar de serem derivadas de gerações de autofecundação, apresentaram desempenhos similares ao híbrido 'Tainung-01', uma cultivar amplamente plantada no mundo e padrão de referência para representantes do grupo Formosa.

3.3.4.3 Parâmetros genéticos estimados nas 30 progênies F_{2:3}

As estimativas dos componentes de variância e parâmetros genéticos para 14 características avaliadas nas 30 progênies encontram-se na tabela 4. As magnitudes do coeficiente de variação experimental (C_{Ve}) variaram de 4,55 a

35,41%. As características FP, CF, FF, EP, TSS, DC e AP apresentaram baixas magnitudes ($Cve \leq 10$) indicando alta precisão experimental. Por sua vez, as características AIPF, MF e DF apresentaram magnitudes médias ($10 \leq Cve \leq 20$), indicando boa precisão. Altas magnitudes ($20 \leq Cve \leq 30$) foram estimadas nas características NFC e NSF e muito altas ($Cve > 30$) em NFD e Prod. As magnitudes altas e muito altas de Cve, observadas no presente estudo, indicam baixa precisão experimental, podem estar associadas à ampla variação que apresentam estas características entre as progênies, em que plantas dentro de uma progênie ou até mesmo a progênie inteira apresentaram completa ausência dessas características. Outra causa que pode ter contribuído para altas magnitudes de Cve foi a incidência do vírus do mosaico do mamoeiro (*Papaya Ringspot Virus*), causando a perda de plantas com conseqüente redução das unidades experimentais. Plantas afetadas pelo vírus apresentam baixa produtividade, e seus frutos podem perder valor comercial. Valores elevados de Cve também têm sido associados a ciclo longo de uma cultura, grande tamanho dos experimentos, respostas diferenciadas dos genótipos aos estresses de altas temperaturas e seca, bem como a respostas diferenciadas dos genótipos à incidência de pragas, doenças, ventos e podas (Ferrão et al., 2008).

As magnitudes do coeficiente de determinação dos efeitos de parcela (c^2) variaram de baixas a altas (0 a 25%). O c^2 mede a variabilidade dentro de blocos, podendo ser classificado como baixo ($c^2 < 0,10$) e alto ($c^2 > 0,10$). Baixas magnitudes foram observadas em CF, FF, NFD e NSF e altas magnitudes para as demais características. As baixas magnitudes de c^2 indicam que pequenas variações ambientais permaneceram dentro das parcelas durante a execução do estudo e também que o delineamento experimental adotado foi eficiente. No entanto, magnitudes altas indicam alta variabilidade entre parcelas dentro de blocos e alta correlação ambiental entre observações dentro de parcelas (Sturion e Resende, 2004).

Tabela 4. Estimativa de componentes de variância e parâmetros genéticos para 14 características avaliadas em 30 progênies F₃ de mamoeiro. Linhares, ES, 2015.

Parâmetros genéticos	AIPF	AP	DC	NFC	NFD	NSF
$\hat{\sigma}_a^2$	49,25	152,51	0,38	20,29	0,75	11,39
$\hat{\sigma}_p^2$	37,06	183,35	0,45	15,21	0,57	3,42
$\hat{\sigma}_e^2$	127,05	476,46	1,16	50,29	8,19	49,12
$\hat{\sigma}_f^2$	213,36	812,32	1,99	85,78	9,50	63,93
\hat{h}_a^2	0,23+-0,06	0,18+-0,06	0,19 +-0,04	0,24 +-0,06	0,08 +-0,03	0,18 +- 0,05
\hat{h}_{aj}^2	0,28	0,24	0,25	0,29	0,08	0,19
c^2	0,17	0,23	0,23	0,18	0,06	0,05
\hat{h}_m^2	0,79	0,72	0,72	0,79	0,65	0,83
Acprog	0,89	0,85	0,85	0,89	0,81	0,91
\hat{h}_{ad}^2	0,19	0,17	0,17	0,20	0,05	0,12
CVg%	11,22	7,52	5,77	22,84	24,25	22,71
CVe%	11,63	9,49	7,21	23,51	35,41	20,81
Cvr	0,96	0,80	0,80	0,97	0,68	1,09
\hat{m}	62,56	164,20	10,72	19,72	3,56	14,86

AIPF: altura de inserção do primeiro fruto (cm); AP: altura da planta (cm); DC: diâmetro do caule (cm); NFC: Número de frutos comerciais; NFD: número de frutos deformados; NSF: número de nós sem frutos. $\hat{\sigma}_a^2$: variância genética entre progênies, $\hat{\sigma}_p^2$: variância ambiental entre parcelas; $\hat{\sigma}_e^2$: variância residual; $\hat{\sigma}_f^2$: variância fenotípica individual; \hat{h}_a^2 = herdabilidade individual no sentido amplo entre progênies; \hat{h}_{aj}^2 : herdabilidade individual no sentido amplo entre progênies, ajustada para os efeitos de parcela; c^2 : coeficiente de determinação dos efeitos de parcela; \hat{h}_m^2 : herdabilidade da média de progênies; Acprog: acurácia da seleção de progênies; \hat{h}_{ad}^2 : herdabilidade aditiva dentro de parcela, desde que ignorada a fração (1/4) da variância genética de dominância; CVg%: coeficiente de variação genética aditiva; CVe%: coeficiente de variação residual; Cvr: Coeficiente de variação relativo. \hat{m} : média geral.

Tabela 4. Cont.

Parâmetros genéticos	MF	CF	DF	FF	FP	EP	TSS	PROD
$\hat{\sigma}_a^2$	88660,38	579,24	9,50	4,17	4,41	0,02	0,32	46,34
$\hat{\sigma}_p^2$	35343,00	5,91	172,57	11,54	7,10	0,02	0,21	87,08
$\hat{\sigma}_e^2$	80324,35	1035,26	534,45	110,85	54,26	0,05	0,68	213,34
$\hat{\sigma}_f^2$	204327,73	1620,41	716,52	126,56	65,77	0,09	1,20	346,76
\hat{h}_a^2	0,43 +- 0,08	0,36 +- 0,07	0,01 +- 0,01	0,03 +- 0,02	0,07 +- 0,03	0,3 +-0,06	0,3 +-0,06	0,13 +-0,04
\hat{h}_{aj}^2	0,52	0,36	0,02	0,04	0,08	0,29	0,32	0,18
c^2	0,17	0,00	0,24	0,09	0,11	0,22	0,18	0,25
\hat{h}_m^2	0,89	0,94	0,14	0,40	0,56	0,79	0,81	0,62
Acprog	0,94	0,97	0,37	0,63	0,75	0,89	0,90	0,79
\hat{h}_{ad}^2	0,55	0,28	0,01	0,02	0,04	0,26	0,24	0,11
CVg%	17,35	9,46	2,57	1,88	2,56	5,54	7,45	20,24
CVe%	12,42	4,57	12,91	4,65	4,55	5,62	7,11	31,71
Cvr	1,40	2,07	0,20	0,41	0,56	0,98	1,04	0,64
\hat{m}	1715,88	254,50	119,82	108,34	81,93	2,80	7,58	33,64

MF: Massa média de fruto (g); CF: comprimento do fruto (mm); DF: diâmetro do fruto (mm); FF: firmeza do fruto (N); FP: Firmeza da polpa (N); EP: espessura da polpa (cm); TSS: teor de sólidos solúveis (°Brix); PROD: produção por planta (kg). $\hat{\sigma}_a^2$: variância genética entre progênies, $\hat{\sigma}_p^2$: variância ambiental entre parcelas; $\hat{\sigma}_e^2$: variância residual; $\hat{\sigma}_f^2$: variância fenotípica individual; \hat{h}_a^2 = herdabilidade individual no sentido amplo entre progênies; \hat{h}_{aj}^2 : herdabilidade individual no sentido amplo entre progênies, ajustada para os efeitos de parcela; c^2 : coeficiente de determinação dos efeitos de parcela; \hat{h}_m^2 : herdabilidade da média de progênies; Acprog: acurácia da seleção de progênies; \hat{h}_{ad}^2 : herdabilidade aditiva dentro de parcela, desde que ignorada a fração (1/4) da variância genética de dominância; CVg%: coeficiente de variação genética aditiva; CVe%: coeficiente de variação residual; Cvr: Coeficiente de variação relativo. \hat{m} : média geral.

Em relação às magnitudes do coeficiente de variação genética aditiva individual (CVg), o qual expressa em percentagem a quantidade de variação genética existente, observaram-se magnitudes variando de baixas a altas (1,88 a 24,25%). Exceto para Prod, NFC, NSF e NFD que apresentaram altas magnitudes, as demais características avaliadas apresentaram magnitudes variando de baixas a moderadas (1,88 a 17,35%). Magnitudes elevadas para características de relevância no melhoramento genético do mamoeiro, tais como NFC, PROD e NFD indicam que é possível selecionar progênies altamente produtivas e com baixo número de frutos deformados com a adoção de procedimentos apropriados. Por outro lado, discreto ganho genético é esperado para características como firmeza da polpa e diâmetro do fruto, por causa da baixa variação genética observada.

O coeficiente de variação relativa (CVr), o qual se refere à magnitude da relação entre Cvg/Cve, indica quanto da variação existente é devida a causas genéticas, sendo uma medida da acurácia das inferências que possam ser obtidas das avaliações fenotípicas. Assim, os valores de CVr variaram de 0,2 a 2,08. Valores acima da unidade propiciam inferências com acurácias e precisões altas e muito altas (Resende e Duarte, 2007). Magnitudes superiores à unidade foram observadas nas características CF, MF, TSS e NSF. Por sua vez, magnitudes próximas à unidade foram observadas em EP, NFC, AIPF, AP, DC. Exceto para DF e FF, as demais características apresentaram magnitudes moderadas. Magnitudes superiores e próximas à unidade revelam uma situação favorável à seleção das progênies para essas características, sugere que métodos simples podem ser utilizados e proporcionar consideráveis ganhos genéticos. Já para as características DF, FF FP, PROD e NFD métodos mais refinados devem ser empregados na seleção de progênies superiores. No entanto, a conclusão sobre valores adequados de CVr deve ser inferida em conjunto com o número de repetições uma vez que a mesma está relacionada à acurácia seletiva (Resende e Duarte, 2007).

Verifica-se que a herdabilidade para seleção dentro de progênies (\hat{h}_{ad}^2) apresentou magnitudes similares àquelas da herdabilidade individual no sentido restrito (\hat{h}_a^2) para todas as características. Baixas magnitudes foram obtidas para as características DF, FF, FP, PROD, NFD e NSF. Por sua vez, medianas magnitudes foram obtidas nas características AIPF, NFC, AP, DC, TSS, EP, CF e

elevadas para a massa do fruto. De acordo com Resende (1995), a magnitude da herdabilidade pode ser classificada como baixa ($0,01 h^2 \leq 0,15$), mediana ($0,15 \leq h^2 \leq 0,50$) e alta ($h^2 > 0,50$). Os desvios-padrão em torno de cada estimativa de \hat{h}_{ad}^2 variaram de baixos a moderados revelando que as herdabilidades estimadas são estatisticamente diferentes de zero. As magnitudes moderadas da \hat{h}_{ad}^2 revelam uma situação favorável para a seleção de plantas dentro de progênies com possibilidades de obter consideráveis ganhos genéticos. Já nas características que apresentaram baixas magnitudes de \hat{h}_{ad}^2 a seleção dentro de progênies não deve possibilitar expressivos ganhos sendo mais relevante a seleção entre progênies.

As magnitudes baixas podem ser explicadas pela natureza genética das progênies avaliadas. De acordo com Hallauer et al. (2010), a variância genética esperada entre progênies F_3 equivale: $\sigma^2 F_3 = \sigma^2 A + 1/4 \sigma^2 D$ e dentro $\sigma^2 F_3 = 1/2 \sigma^2 A + 1/2 \sigma^2 D$. Isto significa que existe maior variância genética entre progênies do que dentro e, portanto as magnitudes de herdabilidades individuais serão menores do que a baseada na média das progênies. Outra possível causa da baixa herdabilidade pode ser a estreita base genética das progênies, as quais foram originadas de um cruzamento entre dois genitores do grupo Formosa. Em avaliações de progênies segregantes de mamoeiro as baixas magnitudes de herdabilidade individual foram associadas à estreita base genética das progênies (Pinto et al., 2013; Ramos et al., 2014a).

Em relação à herdabilidade com base na média das progênies (\hat{h}_m^2), verificam-se magnitudes significativamente superiores àquelas da herdabilidade individual no sentido restrito. Baixas magnitudes de \hat{h}_m^2 foram estimadas para DF (0,14) e medianas para FF (0,40). Já as demais características apresentaram elevados coeficientes de \hat{h}_m^2 , variando de 0,56 em FP a 0,94 em CF. Elevadas magnitudes revelam a existência de expressiva variabilidade genética e pouca influência do ambiente na expressão destas características e uma situação altamente favorável à seleção entre progênies. Altos coeficientes de (\hat{h}_m^2) em progênies segregantes de mamoeiro também foram estimados para altura da planta, altura do primeiro fruto, número de frutos comerciais, massa média de frutos, teor de sólidos solúveis, espessura da polpa (Ramos et al., 2014a) e produção (Silva et al., 2008), ao passo que baixos coeficientes foram estimados para diâmetro do fruto (Ramos et al., 2014a). A herdabilidade é uma propriedade

não somente de uma característica, mas também da população e das circunstâncias ambientais às quais os indivíduos estão sujeitos, podendo sua magnitude ser afetada, se um dos componentes das variâncias fenotípicas e genéticas for alterado (Falconer, 1987).

A qualidade da avaliação genotípica deve ser inferida pelo parâmetro conhecido como acurácia. Este parâmetro expressa a correlação entre o valor genotípico real dos genótipos e aquele predito a partir das informações obtidas dos experimentos de campo, sendo mais alto quanto menores forem os desvios absolutos entre esses valores. No presente estudo, exceto para diâmetro do fruto ($Ac_{prog} = 0,37$) os valores de acurácia apresentaram magnitudes elevadas ($0,63 \leq Ac_{prog} \leq 0,97$). De acordo com Resende (2007), o ideal é que os valores de acurácia sejam superiores a 0,5, pois altas acurácias indicam que a precisão da seleção praticada nas progênes será alta.

3.3.4.4 Seleção entre e dentro de progênes $F_{2:3}$

As estimativas dos ganhos genéticos e das novas médias preditas obtidas com a seleção das progênes superiores indicadas pelo índice encontram-se na tabela 5. Verifica-se que as seis progênes indicadas pelo índice, apresentaram ganhos genéticos variando de 3,07 a 26,61% para PROD, de 15,02 a 29,78% para NFC, de -27,98 a -12,62% para NFD, de -12,25 a 20,41% para NSF e de -3,44 a 3,43% para EP, valores considerados satisfatórios, considerando os ganhos médios estimados para cada característica. Ressalta-se que esses ganhos são em sentido positivo para PROD, NFC e EP e negativos para NSF e NFD. Os maiores ganhos médios foram observados para produção, sendo previsto incremento das médias de 13,28%, 21,67%, -18,12%, 0,83% para as características produção, frutos comerciais, frutos deformados e nós sem fruto, respectivamente. Entre as progênes selecionadas não foram indicados expressivos ganhos genéticos para características relacionadas à qualidade de frutos como firmeza do fruto, firmeza da polpa e teor de sólidos solúveis. Resultados similares foram observados em estudo de *top cross* no mamoeiro realizado por Ide et al. (2009). Estes autores concluíram que é difícil conciliar a produtividade de frutos por plantas com características que conferem qualidade ao fruto como sólidos solúveis totais e firmeza de polpa nos mesmos genótipos.

Ainda os autores consideram que a correlação negativa entre os sólidos solúveis totais e a produtividade por planta exige do melhorista um maior esforço, como a geração de populações segregantes de elevado tamanho na expectativa de identificar recombinantes com ambos os atributos. Assim, apesar de magnitudes moderadas e elevadas estimadas para firmeza da polpa e teor de sólidos solúveis no presente estudo não é possível selecionar progênes altamente produtivas com elevada firmeza e TSS. Isto porque as progênes avaliadas no presente estudo foram derivadas do cruzamento entre dois genitores do grupo Formosa. Entretanto, existem progênes que apresentaram médias superiores às testemunhas para características de importância econômica o que mostra o potencial dos genótipos.

Tabela 5. Ganhos genéticos e novas médias preditas em cinco características de grande importância no melhoramento do mamoeiro para as progênes selecionadas pelo índice IG2

Prog	PROD		NFC		NFD		NSF		EP	
	Gs	NM	Gs	NM	Gs	NM	Gs	NM	Gs	NM
6	26,61	57,03	15,02	26,43	-27,98	5,69	-12,25	2,45	3,43	3,02
16	13,92	45,88	17,60	27,58	-21,28	7,89	-10,22	2,64	0,82	2,85
14	12,82	44,91	23,41	30,18	-12,62	10,72	-7,88	2,85	-3,44	2,59
9	12,35	44,49	29,78	33,02	-14,69	10,05	4,09	3,93	-0,08	2,80
5	10,90	43,22	21,27	29,22	-16,25	9,53	20,41	5,40	-2,60	2,64
21	3,07	36,33	22,95	29,97	-15,92	9,64	10,80	4,54	2,00	2,93
Média	13,28	45,31	21,67	29,40	-18,12	8,92	0,83	3,63	0,02	2,80

Prog: Progênie; PROD: produção por planta, em kg; NFC: número de frutos comerciais; NFD: número de frutos deformados, NSF: nós sem fruto; EP: espessura da polpa, em cm; Gs: Ganho genético em percentagem (%); NM: nova média predita das progênes selecionadas.

O índice também foi utilizado no presente estudo para seleção das melhores linhagens dentro das melhores progênes, considerando uma intensidade de seleção de 20%. As estimativas dos ganhos genéticos e das novas médias preditas obtidas com a seleção praticada dentro das progênes superiores encontram-se na tabela 6.

Tabela 6. Ganhos genéticos e novas médias previstas para quatro características morfoagronômicas de grande importância no melhoramento do mamoeiro, considerando os genótipos selecionados dentro das progênes superiores.

Prog	Gen	Bloco	PROD		NFC		NSF		EP	
			G _s	NM	G _s	NM	G _s	NM	G _s	NM
6	5	3	1,05	48,90	2,62	24,17	-0,16	9,72	0,33	2,94
6	1	2	0,61	48,68	1,43	23,89	-0,51	9,69	-0,24	2,92
6	4	3	0,65	48,70	1,59	23,92	0,27	9,77	-0,01	2,93
6	3	3	0,16	48,47	0,22	23,60	-0,73	9,67	0,33	2,94
6	3	4	0,33	48,55	0,74	23,72	-0,02	9,74	-0,80	2,91
6	1	4	0,41	48,59	0,39	23,64	-0,30	9,71	-0,14	2,93
16	3	2	0,81	41,73	1,91	24,69	0,68	11,03	-0,77	2,82
16	4	1	0,48	41,59	0,61	24,38	-0,69	10,88	0,68	2,86
16	5	2	0,06	41,42	-0,26	24,17	-0,84	10,86	0,00	2,84
16	3	4	0,61	41,64	1,99	24,71	-0,15	10,94	-0,49	2,83
16	2	3	0,13	41,44	0,32	24,30	-0,06	10,95	0,24	2,85
16	7	1	0,23	41,49	0,61	24,38	0,08	10,96	0,44	2,86
14	1	4	0,50	41,24	0,20	25,98	-0,49	12,40	0,40	2,68
14	2	2	0,25	41,14	0,40	26,03	0,51	12,52	0,43	2,69
14	4	3	0,25	41,13	0,11	25,96	0,02	12,46	0,34	2,68
14	3	2	-0,14	40,97	0,40	26,03	-0,27	12,43	-0,27	2,67
14	1	2	-0,07	41,00	0,09	25,95	0,40	12,51	0,23	2,68
14	1	3	-0,04	41,02	0,42	26,04	-0,09	12,45	0,12	2,68
9	2	4	1,04	40,92	1,56	27,76	-0,59	12,09	0,39	2,81
9	5	2	0,20	40,58	0,97	27,60	-0,68	12,08	-0,23	2,79
9	2	1	0,05	40,52	-0,01	27,33	-0,73	12,08	0,39	2,81
9	7	2	0,23	40,59	1,56	27,76	-0,56	12,10	0,43	2,81
9	1	3	0,44	40,67	-0,27	27,26	-0,51	12,10	0,56	2,82
9	6	2	0,48	40,69	1,27	27,68	-0,11	12,15	0,05	2,80
5	4	3	2,98	40,91	4,17	26,18	-0,89	11,78	1,51	2,77
5	8	1	0,59	39,97	1,34	25,47	0,06	11,90	0,09	2,73
5	3	2	0,52	39,94	1,79	25,58	-0,60	11,82	0,19	2,74
5	6	2	-0,06	39,71	-0,30	25,06	-0,60	11,82	-0,10	2,73
5	1	1	0,32	39,86	1,66	25,55	-0,29	11,86	-1,01	2,70
5	7	4	0,45	39,91	1,19	25,43	-0,65	11,81	-0,05	2,73
21	2	1	0,09	35,83	0,64	25,87	-0,23	11,85	-0,10	2,87
21	2	4	-0,11	35,76	0,14	25,74	-0,69	11,79	0,91	2,90
21	3	3	-0,10	35,77	1,07	25,98	-0,49	11,82	-0,43	2,86
21	2	2	-0,23	35,72	-0,32	25,63	0,51	11,94	-0,35	2,87
21	1	1	-0,14	35,75	0,01	25,71	-0,81	11,78	0,27	2,88
21	1	3	0,14	35,85	0,44	25,82	-0,38	11,83	0,45	2,89

Prog: progênie; Gen: genótipo; PROD: produção por planta, em kg; NFC: número de frutos comerciais; NSF: nós sem fruto; EP: espessura da polpa, em cm; G_s: Ganho genético em percentagem (%); NM: nova média prevista dos genótipos selecionados.

Verifica-se uma diminuição dos ganhos previstos na seleção das linhagens em relação à análise baseada na média das progênes, considerando as características PROD, NFC, NSF e EP. Este resultado é esperado uma vez que a

unidade de seleção indivíduo apresenta menor herdabilidade (\hat{h}_a^2) em comparação com a média das progênies. Conforme comentado previamente, a variabilidade genética entre progênies F_3 é maior do que dentro, por conseguinte a magnitude da herdabilidade será menor. Entretanto, nota-se que as médias dos genótipos foram superiores à média geral para estas características.

Verifica-se que os maiores ganhos foram estimados para frutos comerciais ($-0,32\% \leq Gs \leq 2,62\%$), seguido de produção ($-0,23\% \leq Gs \leq 1,05\%$), espessura da polpa ($-0,01\% \leq Gs \leq 1,55\%$), nós sem fruto ($-0,89\% \leq Gs \leq 0,51\%$). Embora fossem observadas baixas magnitudes a progênie 6 apresentou os maiores ganhos para produção e frutos comerciais. Já a progênie 5 apresentou os maiores ganhos para nós sem fruto e espessura da polpa. Nota-se que algumas linhagens apresentaram ganhos negativos para Prod, NFC e EP. O sinal negativo da característica PROD pode ser explicado pela massa do fruto, uma vez que esta característica é produto do número de frutos comerciais pela massa média. Assim, linhagens com elevado NFC podem apresentar frutos de menor tamanho. Caso contrário pode acontecer com linhagens de frutos grandes e média de NFC inferior dentre as selecionadas. De posse dos ganhos genéticos observados para a seleção dentro de progênies percebe-se que a seleção entre progênies deve ser praticada visando o incremento da média das características.

Além dos genótipos selecionados utilizando a seleção combinada, foi realizada também a seleção direta para TSS, FF e FP, com o intuito de manter na população de melhoramento genótipos fonte de teor de sólidos solúveis totais e firmeza do fruto e da polpa. Assim, na tabela 7 são apresentados os ganhos e as novas médias preditas para a seleção direta. Verificam-se ganhos variando de 2,83 a 3,53% para firmeza do fruto e firmeza da polpa e de 1,34 a 1,60% para teor de sólidos solúveis.

A seleção direta baseada em valores genéticos obtida via Blup tem sido aplicada em espécies frutíferas com sucesso por explorar a variação genética dos indivíduos livre de efeitos ambientais. No entanto, a seleção combinada tem sido apontada como uma estratégia apropriada para o melhoramento genético do mamoeiro, mesmo apresentando ganhos inferiores quando comparada com a seleção direta, devido à maior expectativa de sucesso nas futuras gerações por considerar simultaneamente atributos favoráveis e desfavoráveis à cultura (Silva et al., 2008; Pinto et al., 2013; Ramos et al., 2014a).

Tabela 7. Seleção direta para três características de importância para o melhoramento genético do mamoeiro

Característica	Progênie	Genótipo	Bloco	f	a	u+a	Gs	NM
TSS	26	3	2	11,46	1,60	9,19	1,60	9,19
TSS	26	1	3	10,42	1,33	8,91	1,47	9,05
TSS	19	3	4	10,66	1,22	8,81	1,38	8,97
TSS	19	4	1	9,51	1,20	8,79	1,34	8,92
FP	3	1	3	101,30	3,53	85,46	3,53	85,46
FP	3	5	3	98,33	3,41	85,34	3,47	85,40
FF	12	2	3	135,94	2,85	111,18	2,85	111,18
FF	12	6	2	135,05	2,82	111,15	2,83	111,17

TSS: Teor de sólidos solúveis, em °brix; FP: firmeza da polpa, em N; FF: firmeza do fruto, em N; f: valor fenotípico; a: efeito genético aditivo; u+a: valor genético aditivo predito; Gs: ganho genético em percentagem; NM: nova média predita dos genótipos selecionados.

Uma das principais vantagens do BLUP é a estimação dos valores genotípicos livres de efeitos ambientais, os quais são os mais importantes para os melhoristas, pois são estes os verdadeiros valores a serem preditos e representam o potencial genético dos indivíduos. Considerando que o interesse do melhoramento genético do mamoeiro é selecionar genótipos que reúnam o maior número de características desejáveis, o uso de índices que realizam a seleção combinada de características simultaneamente torna-se uma atividade fundamental. O procedimento REML/Blup proporciona o ordenamento das linhagens para cada característica, explorando toda a variação genotípica entre e dentro de progênies (Resende, 2007). No entanto, no melhoramento do mamoeiro os indivíduos são considerados superiores quando apresentam respostas favoráveis para vários atributos. Desta forma, o procedimento REML/Blup não é apropriado para a seleção de genótipos promissores para vários atributos simultaneamente. Isso justifica o uso de índices de seleção baseados em valores genotípicos para aumentar a eficiência dos programas de melhoramento.

3.3.5. CONCLUSÕES

1. As linhagens apresentaram médias similares às testemunhas para principais características de grande importância agronômica.
2. Foi verificada expressiva variabilidade genética entre as progênies mostrando o potencial genético que podem apresentar estas populações segregantes no desenvolvimento de linhagens superiores.
3. O índice mostrou-se consistente no ordenamento das progênies e facilitou a seleção combinada das seis progênies superiores para as características avaliadas. Também proporcionou promissores ganhos genéticos preditos, para características de grande importância no melhoramento genético do mamoeiro.
4. Um total de seis linhagens agronomicamente superiores foi selecionado dentro das seis progênies superiores.

3.4. EFICIÊNCIA DA FENOTIPAGEM BASEADA EM IMAGENS DIGITAIS NA SELEÇÃO DE LINHAGENS ENDOGÂMICAS RECOMBINANTES DE MAMOEIRO

3.4.1 INTRODUÇÃO

No mamoeiro *Carica papaya* (L) a avaliação fenotípica de genótipos é realizada manualmente, sendo uma atividade que demanda mão de obra intensiva, onerosa, demorada, cara e muitas vezes destrutiva. Assim, a avaliação fenotípica tem afetado as estratégias de seleção sendo necessário desenvolver metodologias que permitam coletar, armazenar e analisar dados das características de uma maneira eficiente (Merk et al., 2012).

O processo de mensuração das características deve ser confiável e consistente para avaliar as diferenças fenotípicas e aperfeiçoar a seleção. Recentemente, a incorporação de metodologias de fenotipagem baseadas em imagens digitais tem permitido aperfeiçoar a avaliação de características de interesse no melhoramento de plantas (Honsdorf et al., 2014; Parent et al., 2015; Pauli et al., 2016). Quando aplicadas a populações de melhoramento, a quantificação precisa do fenótipo aumentou em muitas características a proporção de variância devida aos efeitos genéticos bem como os ganhos.

Os melhoristas de fruteiras têm começado a considerar a estimação do valor genético como critério de seleção (Heffner et al., 2009). Um procedimento ótimo de avaliação genética refere-se à estimação dos componentes da variância

pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML) e a estimação dos valores genéticos pelo melhor preditor linear não viciado (BLUP) que utiliza a modelagem mista, proporcionando estimações e previsões mais precisas de parâmetros e valores genéticos (Resende et al., 2006). Em mamoeiro este procedimento foi aplicado com sucesso na avaliação e seleção de genótipos superiores (Oliveira et al., 2012; Pinto et al., 2013; Ramos et al., 2014a).

Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar a eficiência da metodologia de fenotipagem baseada em análise de imagens digitais em relação às estimações de parâmetros genéticos e seleção de linhagens endogâmicas F₄ utilizando o procedimento REML/Blup.

3.4.2 REVISÃO DE LITERATURA

3.4.2.1 Aplicação da análise e processamento de imagens ao melhoramento genético

Em fruteiras a avaliação fenotípica de genótipos requer mão de obra intensiva, estando principalmente baseada nas características relacionadas ao rendimento e qualidade dos frutos. As metodologias de fenotipagem convencionais são trabalhosas, demoradas, de baixo desempenho, caras e muitas vezes destrutivas (Rahaman et al., 2015).

Recentemente, a introdução de metodologias de fenotipagem baseadas em imagens digitais tem permitido avaliar os valores fenotípicos em alta resolução, precisão e larga escala. Em tomateiro, foram avaliadas características de tamanho, formato e cor em frutos de linhagens da América do Norte. A fenotipagem foi realizada por uma metodologia baseada em processamento de imagens digitais. As magnitudes de variância genética estimadas variaram de baixas a moderadas (0,03 a 0,51), indicando alta influência ambiental e herança quantitativa. Empregando o processamento de imagens foi possível diferenciar as linhagens por tamanho, formato e cor (Merk et al., 2012).

Em cedro australiano (*Toona ciliata*), foram estimados parâmetros e valores genéticos através do procedimento REML/Blup, em nível individual, com

medidas repetidas, por meio de procedimentos convencionais e fenotipagem baseada em análise de imagens digitais. A fenotipagem realizada em três avaliações revelou que a análise de imagens foi adequada para quantificar as características de cedro negro. Houve alta precisão para altura da planta, diâmetro do colo e volume cilíndrico. Dos 90 genótipos avaliados, 38 expressaram valores genotípicos preditos para o diâmetro à altura do peito maior do que a média geral dessa característica, 33 para o volume cilíndrico e 49 para altura, permitindo ganhos genéticos de até 25% em média para o volume cilíndrico (Ferreira et al., 2012).

Em *Arabidopsis*, foi desenvolvida uma abordagem baseada em processamento de imagens para analisar em intervalos de tempo a expansão foliar sobre diferentes variações de luz. Foram observadas altas magnitudes de herdabilidade para todas as características de crescimento que mudaram ao longo do tempo. Esta abordagem foi um eficiente sistema de fenotipagem em larga escala que facilitou a estimação da proporção de variância genética de características relacionadas com o crescimento de plântulas em condições ambientais dinâmicas (Zhang et al., 2012).

Em berinjela, foram analisadas imagens digitais para estimar 26 características morfológicas do fruto em 21 acessos de um banco de germoplasma na Espanha. Foram observadas diferenças significativas para a maioria das características. A análise de componentes principais separou claramente os grupos varietais. A ampla variação observada e as elevadas magnitudes de herdabilidade para a maioria das características indicaram que a metodologia baseada em imagens digitais foi uma ferramenta eficiente para a fenotipagem de frutos em germoplasma de berinjela (Plazas et al., 2013).

Em cultivares de algodão (*Gossypium barbadense* L.) foi desenvolvida uma plataforma de fenotipagem dinâmica de características em campo. As plantas foram submetidas a diferentes regimes de irrigação em intervalos de três dias durante um mês. A plataforma foi formada por quatro sensores para mensurar altura do dossel, índice de vegetação normalizado e temperatura do dossel, simultaneamente, em quatro fileiras adjacentes, permitindo a coleta de dados fenotípicos a uma taxa de 0,84 ha h⁻¹. As cultivares apresentaram expressiva variabilidade para as características avaliadas e interações significativas cultivares × regimes de irrigação. Foram obtidas elevadas

magnitudes de herdabilidades no sentido amplo para altura do dossel ($0,86 < h^2 < 0,96$), seguido do índice de vegetação normalizada ($0,28 < h^2 < 0,90$) e temperatura do dossel ($0,01 < h^2 < 0,90$). Além disso, foram observadas correlações elevadas entre as mensurações realizadas com a plataforma e manuais, confirmando a capacidade do sistema para mensurações em larga escala de forma rápida e precisa (Andrade-Sanchez et al., 2014).

Em macieira, foi analisada a variação e o controle genético da eficiência do uso da água e o papel dos seus componentes (biomassa vegetal e transpiração). Foi avaliada uma coleção nuclear de macieira, cultivada em uma plataforma de fenotipagem para mensurar biomassa acumulada, transpiração e eficiência no uso da água em condições ótimas de crescimento. Foram obtidas elevadas magnitudes de herdabilidade para biomassa (0,76) e a eficiência no uso da água (0,73). Moderadas magnitudes de herdabilidade foram observadas para transpiração da planta (0,54). A coleção nuclear foi classificada em seis grupos com morfologia contrastante e eficiência no uso da água. A metodologia foi eficiente na fenotipagem e discriminação dos componentes devidos a variância genética possibilitando o melhoramento de macieira para eficiência no uso da água (Lopez et al., 2015).

3.4.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.3.1 Material genético e descrição do experimento

O experimento foi estabelecido em maio de 2015 no município de Linhares, no Estado do Espírito Santo ($19^{\circ}23'28''S$, $40^{\circ}04'20''W$, altitude 32 m). Foi utilizado um delineamento em blocos completos casualizados com seis repetições, 23 linhagens F_4 e uma planta por parcela (Single Tree Plot - STP). As linhagens avaliadas foram originadas do cruzamento entre dois genitores do grupo 'Formosa' com avanço de gerações através de autofecundações. Foram realizadas duas avaliações correspondendo aos nove e doze meses após o transplante (MAT).

3.4.3.2 Fenotipagem de características morfoagronômicas utilizando a metodologia manual

Em cada planta foram avaliadas as características: Altura da planta (AP) expressa em m e mensurada utilizando trena; diâmetro do caule (DC) expresso em mm e mensurado através de paquímetro digital. Também foram avaliadas as características: número de frutos comerciais (NFC), número de frutos deformados (NFD) e número de nós sem fruto (NSF). Na contagem de frutos, somente foram considerados aqueles com formato definido, sendo marcado o último fruto avaliado para facilitar a contagem realizada pela metodologia baseada em imagens digitais.

3.4.3.3 Fenotipagem de características morfoagronômicas utilizando análise de imagens

Foi utilizada a fenotipagem baseada em análise de imagens para estimar as características morfoagronômicas. Para tanto, foi utilizada uma câmera digital semiprofissional, sendo cada planta fotografada em duas posições diferentes, uma perpendicular à planta (Imagem A) considerando o eixo da fileira e outra pelo lado oposto da mesma planta utilizada na imagem A (Imagem B). As fotos foram obtidas mantendo uma distância de 2,5 m da fileira à planta. A imagem A foi utilizada para mensurar as características: AP expressa em m e DC expressa em mm. Por sua vez, duas imagens (imagem A + Imagem B) foram utilizadas para estimar: NFC, NFD, NSF.

As imagens foram analisadas com auxílio do software de domínio público ImageJ. Em cada planta fotografada foi colocada uma régua como medida de referência para realizar a calibração das dimensões da imagem pela função *set scale* do software. Após a calibração foram mensuradas as características AP e DC empregando a ferramenta seleção de linha reta. As características NFC, NSF e NFD foram estimadas utilizando o *plugin Cell Counter*.

3.4.3.4 Análise estatística

Para as características NFC, NFD, NSF e PROD as análises estatísticas foram realizadas considerando o somatório das duas épocas de avaliação (nove

MAT + doze MAT). Por sua vez, nas características AP e DC foi considerada a média das duas épocas. Os dados referentes às características NFC, NSF e PROD foram normalizados utilizando uma transformação do tipo \sqrt{x} e a característica NFD a uma do tipo $\sqrt{x + 0,5}$.

A análise genética das características utilizando a fenotipagem manual (FM) e empregando a metodologia baseada em análise de imagens digitais (FAI) foi realizada utilizando a metodologia dos modelos mistos via procedimento REML/Blup seguindo o seguinte modelo estatístico:

$$y = X\beta + Za + \varepsilon \quad (1)$$

Em que y = corresponde ao vetor de dados; β é o vetor de efeitos de repetição (assumidos como fixos), a é o vetor dos efeitos genéticos de linhagens (assumidos como aleatórios), ε é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência dos referidos efeitos.

As distribuições e estruturas de variância associadas aos termos do modelo foram:

$$\begin{aligned} y | b, V &\sim N(Xb, V) \\ a | A\sigma_a^2 &\sim N(0, A\sigma_a^2) \\ \varepsilon | \sigma_\varepsilon^2 &\sim N(0, I\sigma_\varepsilon^2) \\ V &= ZA\sigma_a^2Z' + I\sigma_\varepsilon^2 \end{aligned}$$

Os componentes de variância e os parâmetros genéticos foram estimados utilizando o método da máxima verossimilhança restrita (REML) e os valores genéticos obtidos pelo melhor preditor linear não viciado (Blup). Estas análises foram realizadas utilizando o procedimento MIXED do *software* estatístico SAS *Studio* 3.5 (SAS Institute, Cary, NC, USA). Foi realizada a seleção combinada das oito linhagens superiores (35% de intensidade de seleção) utilizando o índice de pesos desenvolvido para a seleção de linhagens no mamoeiro conforme Silva et al. (2008) e Ramos et al. (2014a). Este índice foi construído utilizando os valores genéticos obtidos pelo procedimento MIXED do *software* SAS. Além disso, foram estimados os ganhos genéticos obtidos com a seleção das linhagens superiores indicadas por cada metodologia. Os ganhos genéticos foram estimados utilizando o seguinte estimador:

$$\hat{G}_s = (\hat{y}_s - \mu_0)h^2 \quad (2)$$

Em que:

\hat{G}_s : ganho genético;

$\hat{y}_s - \mu_0$ = diferencial de seleção empregando uma intensidade de seleção de 35%;

h^2 = herdabilidade com base na média da linhagem.

3.4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.4.1 Estimativas de componentes de variância e parâmetros genéticos

Os resultados referentes às estimativas dos componentes de variância e parâmetros genéticos das características avaliadas são mostrados na tabela 1. Na maioria das características, os coeficientes de variação experimental (CVe) estimados pela metodologia de fenotipagem baseada em análise de imagens digitais (FAI) apresentaram valores similares aos encontrados empregando a fenotipagem manual (FM). Assim, empregando a metodologia FAI os CVe variaram de 10 a 28% em quanto que utilizando a FM os coeficientes variaram de 9 a 25%. Baixos valores de CVe foram estimados nas características AP e DC, indicando boa precisão experimental. A precisão na avaliação fenotípica de atributos morfológicos de plantas empregando metodologias baseadas em imagens digitais foi relatada em várias culturas de importância econômica tais como cevada (Chen et al., 2014), cedro australiano (Shimizu et al., 2014), arroz (Sritarapat et al., 2014). No entanto, para as demais características os valores de CVe foram moderados, sendo os maiores para a característica NFD (25 e 28% estimados pela FM e FAI, respectivamente). Valores moderados e elevados de CVe para NFC, NSF, PROD e NFD têm sido reportados em pesquisas de avaliação de linhagens de mamoeiro em campo (Silva et al., 2008; Ramos et al., 2014a). Elevadas magnitudes de CVe indicam baixa precisão experimental e podem estar associadas à grande variação que apresentam estas características

entre as linhagens. Outra causa que pode ter contribuído para moderadas magnitudes foi a seca na região, que ocorre desde o ano 2013 e que tem afetado o desenvolvimento das plantas, causando inclusive a perda de plantas com consequente redução das unidades experimentais. No mamoeiro, estudos relacionados com déficit hídrico têm indicado que a deficiência de água no solo pode reduzir a condutância estomática, resultando no decréscimo da fotossíntese e consequente redução da produção e qualidade de frutos (Campostrini et al., 2010). De acordo com Ferrão et al. (2008) valores elevados de CVe podem estar associados a ciclo longo de uma cultura, grande tamanho dos experimentos, erros de amostragem, respostas diferenciadas dos genótipos aos estresses de altas temperaturas e seca, bem como a respostas diferenciadas dos genótipos à incidência de pragas, doenças, ventos e podas.

Tabela 1. Componentes de variância e parâmetros estimados para seis características morfoagronômicas em linhagens endogâmicas recombinantes F₄ de mamoeiro. Linhares, ES, 2016.

Caráter	Mensuração	Vg	Vres	Vf	Média	CV	h ²	CVg	CVr	Acl
AP	Manual	227	328	292,55	167	11	0,78	9	0,82	0,88
	Imagem A	234	330	299,57	169	11	0,78	9	0,82	0,88
DC	Manual	49,2	59,6	61,15	83,8	9	0,81	8	0,89	0,9
	Imagem A	36,9	62,4	49,35	83,2	10	0,75	7	0,70	0,86
NFC	Manual	0,49	0,76	0,64	4,75	18	0,77	15	0,83	0,87
	Imagem A+B	0,46	0,67	0,59	4,89	17	0,78	14	0,82	0,88
	Imagem A×2	0,51	0,76	0,66	5,04	17	0,77	14	0,82	0,88
	Imagem B×2	0,39	0,82	0,55	4,71	19	0,7	13	0,68	0,84
NFD	Manual	0,23	0,48	0,33	2,78	25	0,71	17	0,68	0,84
	Imagem A+B	0,24	0,52	0,35	2,56	28	0,7	19	0,68	0,84
	Imagem A×2	0,23	0,81	0,39	2,59	35	0,59	18	0,51	0,77
	Imagem B×2	0,28	0,72	0,43	2,46	34	0,66	22	0,65	0,81
NSF	Manual	0,29	0,5	0,39	5,2	14	0,74	10	0,71	0,86
	Imagem A+B	0,34	0,68	0,47	4,93	17	0,71	12	0,71	0,85
	Imagem A×2	0,45	0,97	0,65	4,76	21	0,7	14	0,67	0,84
	Imagem B×2	0,29	0,82	0,46	5,05	18	0,64	11	0,61	0,8
PROD	Manual	0,68	0,8	0,84	3,93	23	0,81	21	0,91	0,9
	Imagem A+B	0,66	0,77	0,81	4,12	21	0,81	20	0,95	0,9
	Imagem A×2	0,73	0,82	0,89	4,16	22	0,82	21	0,95	0,9
	Imagem B×2	0,61	0,97	0,8	3,87	25	0,76	20	0,80	0,87

Dados transformados utilizando a expressão \sqrt{x} ; Dados transformados utilizando a expressão $\sqrt{x + 0.5}$

Vg: variância genética; Vres: variância residual; Vf: variância fenotípica; h²: Herdabilidade com base na média das linhagens; CV (%): Coeficiente de variação experimental; CVg (%): coeficiente de variação genético; CVr: coeficiente de variação relativo (CVg/CV) e acurácia da seleção de linhagens (Acl).

Em relação às magnitudes do coeficiente de variação genótipo (CVg), o qual expressa em percentagem a quantidade de variação genética existente, as duas metodologias de fenotipagem apresentaram valores similares para a maioria das características avaliadas. Desta forma empregando a metodologia FAI os CVg variaram de 7 a 20% e utilizando a FM variaram de 8 a 21%. Utilizando a metodologia IAF, obtiveram-se valores ligeiramente mais elevados para NFD, NSF e PROD. No entanto, para o DC e NFC foram obtidos valores ligeiramente inferiores. Baixas magnitudes foram estimadas em AP e DC e moderadas em NSF, NFC, NFD e PROD, pelas duas metodologias. Assim de acordo com as magnitudes de CVg, percebe-se que o desempenho da metodologia IAF foi comparável com o FM na captação da variabilidade genética entre as linhagens. Magnitudes elevadas para características de relevância no melhoramento genético do mamoeiro, tais como NFC, PROD e NFD indicam que é possível selecionar linhagens altamente produtivas e com baixo número de frutos deformados.

O coeficiente de variação relativa (CVr), o qual se refere à magnitude da relação entre Cvg/Cve, indica quanto da variação existente é devida a causas genéticas, sendo uma medida da acurácia das inferências que possam ser obtidas das avaliações fenotípicas. Assim, os valores de CVr variaram de 0,68 (NFD) a 0,93 (PROD) empregando a metodologia de FAI e utilizando a FM variaram de 0,69 (NFD) a 0,92 (PROD). Valores acima da unidade propiciam inferências com acurácias e precisões altas e muito altas (Resende e Duarte, 2007). No presente estudo, não foram observadas magnitudes iguais à unidade nas características avaliadas, porém, para AP, DC, NFC e PROD, foram obtidas magnitudes próximas da unidade nas duas metodologias de fenotipagem, indicando uma situação favorável à seleção de linhagens superiores. Já no caso das características NFD e NSF métodos mais acurados devem ser empregados para selecionar as linhagens superiores. No entanto, a conclusão sobre valores adequados de CVr deve ser inferida em conjunto com o número de repetições uma vez que a mesma está relacionada à acurácia seletiva (Resende e Duarte, 2007).

Em relação à herdabilidade com base na média das linhagens (h^2) a FAI permitiu estimar magnitudes iguais às estimadas pela FM para as características AP e PROD (0,78 e 0,81), e semelhantes para a característica NFC (FAI: 0,78 e

FM: 0,77). Por sua vez, a FM foi mais eficiente em acessar a variabilidade genética das linhagens em relação às características DC (0,81) e NSF (0,74) comparadas com as obtidas empregando a FAI (0,75 e 0,71). É importante salientar que embora a FAI apresentasse magnitudes menores para estas características em relação à FM, estas foram muito próximas, não havendo razão para recusar sua aplicação no melhoramento genético do mamoeiro. De acordo com os resultados, a maior variabilidade genética foi obtida para a característica PROD nas duas metodologias e a menor variabilidade genética foi obtida para as características NFD e NSF. Apesar de ser uma população originada do cruzamento entre dois genitores do mesmo grupo heterótico, apresenta expressiva variabilidade genética para a maioria das características avaliadas, com destaque para NFC e PROD, as quais têm maior importância econômica entre as características consideradas neste estudo. Esta variabilidade genética pode ser devida à natureza endogâmica das linhagens avaliadas, as quais são produto de avanço de três gerações de autofecundação (F_4), tendo como consequência o aumento da variância genética entre as linhagens tornando-as mais distantes geneticamente. De acordo com Hallauer et al. (2010), a variância genética esperada entre linhagens F_4 equivale: $\sigma^2G: 3/2\sigma^2A + 3/16\sigma^2D$, em que:

σ^2A : variância genética aditiva.

σ^2D : variância genética de dominância.

Desta forma, a maior parte dessa variância é devida ao componente da variância aditiva, o qual indica que a herdabilidade será principalmente de natureza aditiva aumentando as chances de obter maiores ganhos na seleção destas linhagens.

Com o intuito de determinar quantas imagens podem ser empregadas na fenotipagem das características NFC, NFD, NSF e PROD, as imagens A e B foram comparadas para avaliar a simetria entre os lados fotografados em relação às referidas características. Para tanto, o número de frutos (comerciais e deformados), e nós sem fruto obtido em cada imagem foi multiplicado por dois (Imagem A \times 2; Imagem B \times 2) para estimar os parâmetros genéticos (Tabela 1). Assim, as magnitudes de CVe estimadas empregando a Imagem A \times 2 variaram de 17% (NFC) a 35% (NFD) e utilizando a Imagem B \times 2 de 19% (NFD) a 34% (NFD). Em relação ao coeficiente de variação genotípico utilizando a Imagem A \times 2 foram obtidas magnitudes que variaram de 14% (NSF) a 21% (PROD) e

empregando a Imagem B x 2 as magnitudes variaram de 11% (NSF) a 22% (NFD). Em relação ao CVr empregando a Imagem Ax 2 as magnitudes variaram de 0,53 (NFD) a 0,94 (PROD) e utilizando a Imagem B x 2 variaram de 0,60 em NSF a 0,79 (PROD). A herdabilidade empregando a Imagem A x 2 variou de 0,59 (NFD) a 0,82 (PROD) em quanto que utilizando a Imagem B x 2 variou de 0,64 (NSF) a 0,76 (PROD). Assim, analisando as magnitudes das estimativas dos parâmetros obtidas empregando um dos lados fotografados é observado que os lados fotografados não são simétricos sendo recomendado utilizar as duas imagens para avaliar as características que dependem de contagens. A assimetria observada pode estar relacionada com a natureza genética das linhagens, as quais se encontram na terceira geração de autofecundação, o qual supõe que ainda existe variabilidade genética dentro de linhagens, embora nas condições experimentais de uma planta por parcela (STP) esta variação não foi considerada. Outra possível causa pode ser a variação que existe na disposição ou inserção dos frutos e nós dentro da mesma planta apresentando diferenças entre os lados fotografados, o que resulta que um determinado lado concentra a maior quantidade destes atributos produzindo resultados pouco consistentes. Esta variação também pode ser devida à seca que vêm acontecendo na região com as implicações já comentadas anteriormente. Portanto, para fins de comparação das metodologias de fenotipagem e, em decorrência dos resultados obtidos foram realizadas as análises referentes ao índice de seleção e estimações dos ganhos genéticos considerando o somatório das duas imagens (Imagem A + Imagem B).

3.4.4.2 Seleção de linhagens e estimação de ganhos genéticos

No geral, o índice de pesos utilizado para realizar a seleção combinada mostrou-se coerente ao ranquear as linhagens em relação a todas as características avaliadas sendo as mesmas linhagens superiores selecionadas nas duas metodologias de fenotipagem (Tabelas 2 e 3). Além disso, mostrou boa consistência na seleção das linhagens dado que a mesma foi baseada principalmente nas características PROD e NFC nas quais foram atribuídos os maiores pesos econômicos. Com base neste índice foram selecionadas as oito linhagens superiores. Nas duas metodologias, considerando a média das linhagens superiores, foram obtidos expressivos ganhos genéticos para todas as

características que variaram de 29% em PROD a -8% em NSF empregando a FM e de 27% em PROD a -10% em NSF empregando a FAI.

Tabela 2. Ganhos genéticos e novas médias preditas em cinco características de grande importância no melhoramento do mamoeiro para as linhagens selecionadas pelo índice (IG2) utilizando a fenotipagem manual

linhagem	PROD		NFC		NFD		NSF		DC	
	G _s	\bar{X}_s								
6	100	54,48	30	40,37	18	11,39	-18	16,34	13	107,41
23	19	24,02	42	46,56	36	14,74	-4	25,45	0	83,23
22	-2	16,02	39	45,27	15	10,81	-21	13,93	0	83,93
7	15	22,65	23	36,51	-24	3,27	-14	18,57	1	84,87
18	18	23,81	17	33,18	-42	-0,12	14	37,31	4	90,76
9	23	25,53	14	31,17	5	8,91	-11	20,62	-1	81,82
8	17	23,35	6	26,97	-23	3,57	-18	16,19	8	98,86
13	37	30,96	0	23,81	-19	4,25	3	30,11	0	82,93
Média	29	27,6	21	35,48	-4	7,1	-8	22,32	3	89,23

G_s: Ganho Genético em percentagem; \bar{X}_s : nova média predita das linhagens selecionadas; PROD: produção por planta, expressa em kg; NFC: número de frutos comerciais; NFD: número de frutos deformados; NSF: número de nós sem fruto; DC: diâmetro do caule, expressa em mm.

As duas metodologias apresentaram boa consistência levando em conta as magnitudes das estimações dos ganhos para cada um dos atributos, sendo o maior ganho médio obtido para produção, e o menor para o diâmetro do caule. Ressalta-se que esses ganhos são no sentido positivo para os atributos PROD, NFC e DC, e em sentido negativo para NFD e NSF uma vez que o objetivo é diminuir as médias destes últimos.

Empregando a FAI foram obtidos maiores ganhos genéticos do que a FM para as características NSF e DC e similares para NFC. No entanto, para as características PROD e NFD a FM apresentou maiores ganhos. Empregando a FM as oito linhagens selecionadas apresentaram ganhos que variaram de -2% a 99% para PROD, de 0% a 39% para NFC, de -42% a 36% para NFD, de -18 a 14% para NSF e de -1% a 13 para DC (Tabela 2). Por sua vez, empregando FAI os ganhos variaram de -1% a 103% para PROD, a partir de -3% a 43% para NFC, de -48% a 44% para NFD, de -27 a 14% para NSF e de -2% a 9% para DC (Tabela 3). O sinal negativo da característica PROD obtido com a seleção da linhagem 22 nas duas metodologias é explicado pela massa do fruto, uma vez

que esta característica é produto do número de frutos comerciais pela massa média, e a mesma apresentou frutos em média de 470 g sendo a menor dentre as linhagens selecionadas. Já esta linhagem apresentou ganho expressivo e positivo para NFC, o qual justifica sua seleção. Caso contrário aconteceu com a linhagem 13 na qual a massa média foi de 890 g sendo uma das maiores. O sinal positivo para NFD apresentado em algumas linhagens selecionadas é devido a que algumas plantas produtivas também produziram frutos com anomalias, o que incrementa a média desta característica.

Tabela 3. Ganhos genéticos e novas médias preditas em cinco características de grande importância no melhoramento do mamoeiro para as linhagens selecionadas pelo índice (IG2) utilizando análise de imagens

Linhagem	PROD		NFC		NFD		NSF		DC	
	G _s	\bar{X}_s								
6	103	58,82	33	44,05	9	8,23	-22	12,13	9	101,11
18	22	26,54	22	37,53	-48	-1,11	14	33,63	4	90,58
22	-1	17,47	43	49,63	19	9,94	-27	8,7	2	87,53
23	13	23,03	36	45,62	44	14,12	-15	16,42	1	84,7
7	17	24,84	22	37,83	-30	1,88	-9	19,63	2	86,17
8	17	24,51	8	29,52	-16	4,15	-12	17,78	9	100,77
13	31	30,12	-3	23,15	-26	2,45	-2	23,94	1	84,81
9	15	23,67	7	29,2	-3	6,25	-9	19,72	-2	78,92
Média	27	28,62	21	37,07	-6	5,74	-10	18,99	3	89,32

G_s: Ganho Genético em percentagem; \bar{X}_s : nova média predita das linhagens selecionadas; PROD: produção por planta, expressa em kg; NFC: número de frutos comerciais; NFD: número de frutos deformados; NSF: número de nós sem fruto; DC: diâmetro do caule, expressa em mm.

As diferenças entre as metodologias de fenotipagem relacionadas com as magnitudes das estimações dos ganhos genéticos são devido às diferenças entre as médias e os coeficientes de herdabilidade. Isto está relacionado com as peculiaridades de cada metodologia. Por exemplo, em relação ao número de frutos, em alguns casos, um fruto não é completamente visível porque as folhas, ramos, ou frutos impedem sua visualização, ou mais frutos podem estar crescendo num mesmo nó. Desta forma, a oclusão dos frutos pode minimizar a área visível dos mesmos dificultando seu reconhecimento na imagem. Erros devido à oclusão de frutos têm sido abordados em estudos de estimações desta característica através de metodologias baseadas em imagens digitais

(Aggelopoulou et al., 2011; Payne et al., 2013; Roscher et al., 2014). Além disso, o erro no reconhecimento de frutos deformados pode ser devido à dificuldade em identificar a parte do fruto que apresenta a anomalia. Por exemplo, os frutos carpeloides podem ser confundidos com frutos comerciais. Já no caso dos frutos pentândricos a identificação é mais fácil devido ao formato característico destes. No entanto, um avaliador devidamente treinado e experiente pode identificar na imagem a maioria dos frutos deformados diminuindo o erro da metodologia. Por outro lado, a contagem manual de frutos em mamoeiro é uma atividade que demanda mão de obra intensiva, na qual o avaliador precisa girar em torno de cada planta, ou em muitos casos, utilizar uma escada para realizar a contagem. Desta forma, a avaliação manual principalmente em plantas produtivas ou experimentos com grande número de tratamentos é trabalhosa, induzindo o avaliador a erros na contagem, produto do cansaço e na dificuldade de memorizar a quantidade de frutos. Assim, estas peculiaridades relativas a cada metodologia, bem como as condições experimentais e a estrutura genética das linhagens, explicam as diferenças entre as magnitudes das médias e coeficientes de herdabilidade e consequentes estimações dos ganhos genéticos obtidas em cada metodologia.

A seleção direta baseada em valores genéticos obtida via Blup tem sido aplicada em espécies frutíferas com sucesso por explorar a variação genética dos indivíduos livre de efeitos ambientais. No entanto, a seleção combinada tem sido apontada como uma estratégia apropriada para o melhoramento genético do mamoeiro, mesmo apresentando ganhos inferiores quando comparada com a seleção direta, devido à maior expectativa de sucesso nas futuras gerações por considerar simultaneamente atributos favoráveis e desfavoráveis à cultura (Silva et al., 2008; Pinto et al., 2013; Ramos et al., 2014a). Pelas duas metodologias de fenotipagem verificou-se expressiva variabilidade genética entre as linhagens em relação às características avaliadas, sendo selecionadas oito linhagens superiores para avanço de gerações e ciclos de seleção, salientando que essa seleção deverá ser realizada entre linhagens em razão da evolução da variância genética de posse das gerações de autofecundação. Além disso, é importante salientar que os parâmetros genéticos estimados bem como a eficiência do índice na seleção das linhagens superiores são caracteres inerentes às linhagens F_4 e às condições experimentais estabelecidas neste estudo.

A FAI mostrou ser uma ferramenta eficiente na avaliação fenotípica no que se refere à precisão e acurácia seletiva na captação da variabilidade genética e nos ganhos com a seleção de linhagens superiores quando comparada com a FM. Adicionalmente, esta metodologia pode ser facilmente adotada já que as imagens são capturadas empregando uma câmera convencional, a qual é barata, facilmente manuseada e transportada. Além disso, as imagens podem ser armazenadas em computador para análises posteriores. Isso reduz a mão de obra e o tempo empregado nas mensurações em campo aprimorando a avaliação fenotípica. Como evidenciado neste estudo, em que na FM dois avaliadores empregaram em média 100 s para estimar as características morfoagronômicas avaliadas, enquanto que os mesmos avaliadores empregaram 16 s para capturar duas imagens por planta e 30 s para análises da imagem. Além disso, a FAI apresenta a vantagem de o tempo empregado na captura das imagens não depender da carga de frutos nem da altura das plantas sendo mais rápida do que a FM, porque esta última será mais demorada em plantas produtivas e/ou altas, pois esta atividade se torna mais trabalhosa. Desta forma, a expectativa é que a FAI permita expandir o tamanho dos experimentos, realizando a avaliação fenotípica rápida e precisa, contribuindo para incrementar o diferencial de seleção e o coeficiente de herdabilidade com efeitos diretos nos ganhos genéticos. Espera-se ainda que a mesma possa ser empregada em várias fases dos programas de melhoramento genético do mamoeiro, tais como, avaliação de germoplasma, desenvolvimento de linhagens, avaliação de ensaios de competição de rendimento, estudos de seleção genômica (GWS), estudos de genética de associação (GWAS) e seleção assistida por marcadores (MAS).

3.4.5 CONCLUSÕES

1. A fenotipagem baseada em análise de imagens mostrou ser uma ferramenta eficiente na avaliação fenotípica no que se refere à precisão e acurácia seletiva na captação da variabilidade genética e nos ganhos com a seleção de linhagens superiores quando comparada com a fenotipagem manual.

2. Considerando-se a fenotipagem baseada em análise de imagens, muito menos dependente de mão de obra, a expectativa é que a mesma possa ser incorporada na rotina dos programas de melhoramento do mamoeiro, propiciando inclusive, ampliar o quantitativo de linhagens em avaliação, com conseqüente incremento nos ganhos genéticos.

3.5 ANÁLISE COLORIMÉTRICA DO EPICARPO DE FRUTOS DE LINHAGENS ENDOGÂMICAS DE MAMOEIRO VIA ANÁLISE DE IMAGENS DIGITAIS

3.5.1 INTRODUÇÃO

O mamão é um fruto climatérico que exhibe um aumento da produção de etileno durante a maturação, acompanhado por amolecimento e mudança de cor (Bron e Jacomino, 2006). Os frutos são colhidos geralmente quando exibem uma ligeira perda global de cor verde com um pouco de cor amarela no ápice do fruto (Kader et al., 2002). Uma vez que, durante o amadurecimento os frutos mudam de cor verde para amarelo, laranja ou vermelho, métodos não destrutivos baseados em imagens podem ser aplicados para determinar quantitativamente o grau de maturação do fruto. A medição da cor, além de métodos subjetivos usa uma variedade de espectrofotômetros de refletância luminosa ou transmitância. No entanto, seu alto custo limita o uso em larga escala.

A cor, que é uma propriedade física fundamental de produtos agrícolas e alimentares, tem se correlacionado bem com outros atributos físicos, químicos e sensoriais da qualidade do produto. A cor da superfície de um fruto é uma característica visual importante que tem sido utilizado tradicionalmente para determinar a sua maturação. A mudança na cor durante a maturação é devido à degradação da clorofila, seguida do aparecimento de pigmentos que estavam encobertos pela clorofila e uma síntese concomitante de diferentes tipos de antocianinas e acúmulo de carotenóides (Tucker e Grierson, 1987).

A análise de imagens tem sido aplicada para avaliar o grau de amadurecimento de frutos e estimar a associação com características de qualidade como firmeza e teor de sólidos solúveis (Ruiz et al., 1996; Mendoza et al., 2006; Amarasinghe et al., 2009; Domingo et al., 2012). Três sistemas de cores têm sido frequentemente utilizados: o sistema (HSV), que descreve as cores formadas pelos componentes *hue* (matiz), *saturation* (saturação) e *brightness* (brilho); o modelo CieLab que descreve a cor com base na percepção humana e o modelo RGB (Adobe Systems 2002). Uma vantagem importante destas técnicas de imagem é a fenotipagem não destrutiva. Tradicionalmente, o estágio de maturação é indicado pela porcentagem de cor da superfície do epicarpo, firmeza da polpa e teor de sólidos solúveis. A determinação dessas características envolve métodos destrutivos. Existem diversos estudos da aplicação das imagens digitais na determinação da cor da superfície para fins comerciais, no entanto, o seu uso no melhoramento de fruteiras é escasso.

A aplicação de metodologias de fenotipagem baseadas em imagens digitais vem ganhando o interesse dos melhoristas, por realizar uma avaliação fenotípica precisa, em larga escala, com pouca mão de obra e barata. A possibilidade de estimar indiretamente características de qualidade de frutos como firmeza e teor de sólidos solúveis, pode ser de grande valia para aumentar a eficiência da avaliação fenotípica das populações de melhoramento.

Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivos: quantificar a variação genética da cor da superfície do epicarpo de frutos de mamão durante o amadurecimento via análise de imagens digitais de frutos e estimar correlações fenotípicas e genéticas com características de qualidade de frutos.

3.5.2 REVISÃO

3.5.2.1 Aplicação das metodologias baseadas em imagens na análise colorimétrica do epicarpo de frutos

Estudos de variação de cores de objetos empregando imagens são realizados empregando sistemas de cores, sendo amplamente utilizados o RGB e

o Cielab. O sistema de cores aditivas RGB formado por vermelho (R), verde (G) e azul (B) foi desenvolvido com o propósito de reproduzir as cores em dispositivos eletrônicos como monitores de TV e computador, retroprojetores, scanners e câmeras digitais. Uma cor no sistema RGB pode ser descrita pela indicação da quantidade de vermelho, verde e azul que contém. Cada uma pode variar entre o mínimo (completamente escuro) e máximo (completamente intenso). O sistema Cielab foi desenvolvido pela *Commission Internationale de L'Eclairage* (CIE), organização internacional formada para promover a investigação relacionada com aspectos de cor. Este sistema expressa numericamente as cores e pode ser representado por três eixos espaciais perpendiculares entre si, cujos pontos determinam diferenças numéricas mais uniformes em relação às diferenças visuais. O sistema é formado por três parâmetros que definem a cor (L^* , a^* e b^*). Onde L^* representa a coordenada referente à luminosidade do objeto, variando do preto (-L) ao branco (+L); a^* é a coordenada cromática no eixo vermelho-verde; b^* é a coordenada cromática no eixo amarelo-azul. Matiz e croma são descritores de cor com base nos valores de a^* e b^* . Hue representa a cor básica, sendo uma medida angular no quadrante entre os eixos a^* e b^* . Croma é a saturação da cor, sendo medido radialmente a partir do centro de cada quadrante com os eixos a^* e b^* .

Em espécies hortícolas e frutíferas, as imagens digitais têm sido utilizadas para analisar variações da cor dos frutos e estabelecer associações com a maturação. Em tomateiro, foram avaliados índices de cores para determinar o amadurecimento dos frutos na planta. Utilizando o sistema Cielab, foi observado que os valores de hue e a relação a^*/b^* foram apropriados para determinar o amadurecimento de frutos na planta (López Camelo e Gómez, 2004). Também nesta espécie foi desenvolvido um aplicativo do *software Tomato Analyzer*, chamado *Color Test* (TACT). A proporção de variância genotípica para uniformidade e quantidade de cor medida pelo TACT foi significativamente maior do que as estimativas obtidas empregando colorímetro (Darrigues, 2008).

Em tamareira, características de cor foram analisadas nas cultivares 'Lolo', 'Khalas', 'Berhi', 'Fard' e 'Bomaan'. Foram quantificados os pixels pertencentes aos valores de R, G e B. Os resultados mostraram que os valores de azul (B) podem ser utilizados para discriminar as cultivares (Fadel et al., 2006).

No mamoeiro, metodologias baseadas em processamento de imagem foram aplicadas para quantificar a variação das cores da superfície do fruto durante o amadurecimento. Na cultivar 'Red Lady' foram utilizados algoritmos de processamento de imagens nos sistemas RGB e OHTA para analisar regiões de cor amarela nos frutos. Foi observado um aumento não linear da cor amarela com o estágio de amadurecimento dos frutos (Amarasinghe et al., 2009). Na cultivar 'Sinta' foi determinado o grau de amadurecimento dos frutos utilizando imagens digitais de frutos em diferentes estádios de maturação, com base nos valores de vermelho (R), verde (G) e azul (B). Características de qualidade de frutos como firmeza do fruto, teor de sólidos solúveis e carboidratos totais foram correlacionadas com os valores de RGB. Dentre as características avaliadas, a firmeza do fruto e o teor de carboidratos totais apresentaram elevadas magnitudes de correlações fenotípicas com valores de R, G, B (Domingo et al. (2012). No mamoeiro, estudos em populações de melhoramento para analisar variações de cor dos frutos durante o amadurecimento não foram encontrados.

3.5.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.5.3.1 Material Genético

Foram avaliadas 23 linhagens endogâmicas F₄ derivadas do cruzamento entre as linhagens Sekati e JS12 com avanço de gerações através de autofecundações.

3.5.3.2 Local e delineamento experimental

O estudo foi realizado na Empresa Caliman Agrícola, localizado no município de Linhares, estado do Espírito Santo. Foi utilizado um delineamento em blocos completos casualizados com seis repetições, 23 linhagens F₄ e uma planta por parcela (*Single Tree Plot* - STP). Foram coletados frutos em estágio zero de maturação de acordo com a escala desenvolvida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (MAPA). Após a coleta, os frutos

foram transportados ao laboratório da Empresa Caliman Agrícola S/A, armazenados a temperatura ambiente e avaliados após um período de quatro dias de repouso.

3.5.3.3 Fenotipagem de características associadas à qualidade de frutos

As características relacionadas à qualidade de frutos foram as seguintes: teor de sólidos solúveis (TSS) em °Brix; firmeza do fruto (FF) em N; firmeza da polpa (FP) em N; espessura da polpa (EP) em cm e massa do fruto (MF) em g. As mensurações foram realizadas conforme descrito por Silva et al.(2008) e Ramos et al.(2014a).

3.5.3.4 Características de cor avaliadas na superfície de frutos

Para realizar a mensuração de características de cor do epicarpo foi construída uma plataforma de fenotipagem formada por uma caixa de dimensões 50×60×60 cm, com as paredes internas recobertas com cartolina branca e iluminadas com duas lâmpadas PL de 20 W. Uma câmera semiprofissional Sony DSCHX300 colocada na parte superior da caixa e um notebook equipado com o *software* de visão computacional *Tomato Analyzer* v.3 (Brewer et al., 2006). Cada fruto foi colocado no centro do campo de visão da câmera e quatro imagens RGB coloridas foram capturadas após girar manualmente o fruto 90° em torno do seu eixo longitudinal. Inicialmente, foi realizado um pré-processamento às imagens que consistiu em substituir o fundo branco por preto já que o *software* reconhece imagens com fundo preto. A análise colorimétrica foi realizada utilizando o pacote *Tomato Analyzer - Color Test* (TACT) do *software*, desenvolvido por Darrigues (2008), para a quantificação de cores de frutos. Os valores iniciais dos componentes cromáticos (L^* , a^* e b^*) do sistema CieLab, foram obtidos utilizando a calibração padrão do TACT. Esta calibração foi realizada assumindo valores de 1,0 para o coeficiente angular e de zero para os interceptos de uma equação de regressão linear. Após realizar a calibração foi selecionada a análise de valores médios das cores, calculados pela varredura de todos os pixels do objeto. O fluxograma de fenotipagem empregando esta metodologia encontra-se ilustrado na figura 1.

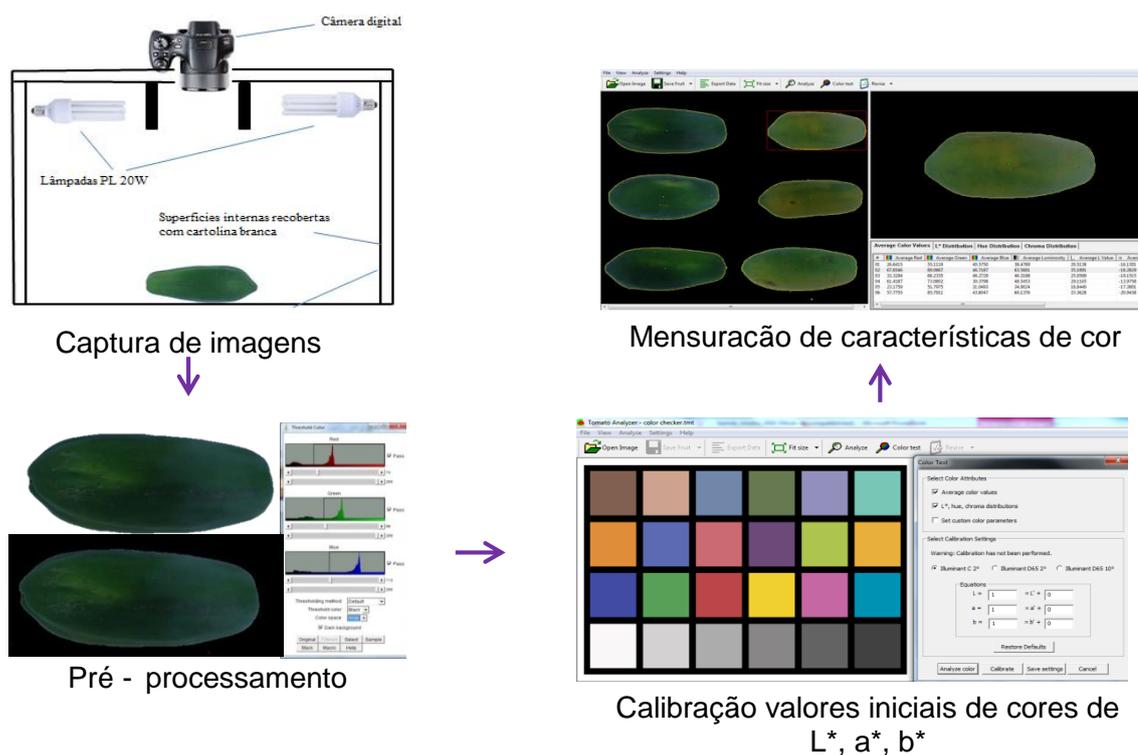


Figura 1. Fluxograma de análise de imagens para mensuração de valores de RGB e CieLab no epicarpo de frutos

As características de cor avaliadas foram as seguintes:

R: média da quantidade de vermelho (variando de 0 a 255) no sistema de cores RGB, em todos os pixels no objeto;

G: média da quantidade de verde (variando de 0 a 255) no sistema de cores RGB, em todos os pixels no objeto;

B: média da quantidade de azul (variando de 0 a 255) no sistema de cores RGB, em todos os pixels no objeto;

Luminosidade: média da quantidade de luminosidade (variando de 0 a 240) em todos os pixels. Estimada a partir do valor de RGB de cada pixel por meio da expressão:

$$Luminosidade = \frac{[máximo(R, G, B) + \text{mínimo}(R, G, B)] \times 240}{2 \times 255}$$

L*: média da coordenada cromática entre branco e preto (variando de 0 a 100) no sistema de cores CieLab, em todos os pixels no objeto;

a*: média da coordenada cromática verde/vermelho (variando de 0 a 100) no sistema de cores CieLab, em todos os pixels no objeto;

b^* : média da coordenada cromática azul/amarelo (variando de 0 a 100) no sistema de cores CieLab, em todos os pixels no objeto;

Hue: medida angular da tonalidade (variando de 0 a 360°) representada pelas médias de a^* e de b^* ;

Croma: média da saturação representada pelas médias de a^* e de b^* .

Após mensuração das características de cor, foi calculada uma média para cada característica, determinada pelas mensurações realizadas nas quatro imagens capturadas por fruto avaliado de cada linhagem. Além disso, para contornar possíveis distorções produzidas por luzes e sombras no momento da captura das imagens, os valores de R, G e B foram normalizados por meio das expressões:

$$r = \frac{R}{(R + G + B)}$$

$$g = \frac{G}{(R + G + B)}$$

$$b = \frac{B}{(R + G + B)}$$

Em que:

r , g e b são os valores normalizados de R, G e B.

3.5.3.4 Análise estatística

Inicialmente as características foram avaliadas utilizando a metodologia dos modelos mistos via procedimento REML/Blup seguindo o seguinte modelo estatístico:

$$y = X\beta + Z\mu + \varepsilon \quad (1)$$

Em que y = corresponde ao vetor de observações;

β é o vetor de efeitos de repetição (assumidos como fixos);

μ é o vetor dos efeitos genéticos de linhagens (assumidos como aleatórios);

ε é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios).

As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência dos referidos efeitos.

Os componentes de variância e os parâmetros genéticos foram estimados utilizando o método da máxima verossimilhança restrita (REML) e os valores genéticos obtidos pelo melhor preditor linear não viciado (Blup). Estas análises foram realizadas utilizando o procedimento MIXED do *software* estatístico SAS Studio 3.5 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

Os componentes de variância e parâmetros genéticos estimados foram:

σ^2_f : estimativa da variância fenotípica entre linhagens

V_g : estimativa da variância genética entre linhagens;

V_e : estimativa da variância residual;

h^2 : estimativa da herdabilidade com base na média das linhagens;

C_{vg} : estimativa do coeficiente de determinação genotípico;

C_{ve} : estimativa do coeficiente de variação experimental;

C_{vr} : estimativa do índice de variação relativa;

Os estimadores para obter as estimativas foram definidos no capítulo 4.

3.5.3.4.1 Estimações das correlações fenotípicas e genéticas

Foram realizadas as estimações das correlações fenotípicas e genéticas entre as características relacionadas com qualidade e as relacionadas com a cor do epicarpo dos frutos.

As análises foram realizadas utilizando o programa Genes (Cruz, 2013).

Empregando as estimativas dos componentes de variância e covariâncias genotípicas, a correlação genética entre as características i e j foi estimada por:

$$\hat{r}_{gij} = \frac{COV_{ij}}{\hat{\sigma}_{Gi}\hat{\sigma}_{Gj}}$$

Em que:

COV_{ij} : covariância genotípica estimada entre as características i e j ;

$\hat{\sigma}_{Gi}$: desvio padrão genotípico estimado na característica i ;

$\hat{\sigma}_{Gj}$: desvio padrão genotípico estimado na característica j .

3.5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.4.1 Estimativas de parâmetros genéticos

As estimativas dos parâmetros genéticos para características de qualidade de fruto e as relacionadas à cor do epicarpo avaliadas nas 23 linhagens endogâmicas encontram-se na tabela 1. Ressalta-se que entre as características de cor, b^* , Hue, Croma do sistema CieLab e r, g e b do sistema RGB foram as que melhor explicaram a variação da cor dos frutos durante o amadurecimento. Portanto, a análise de parâmetros genéticos e as correlações são realizadas com base nas referidas características de cor.

Verifica-se que as magnitudes do coeficiente de variação experimental (CVe) variaram de 4,56 a 37,77%. As características Hue e g apresentaram baixas magnitudes ($CVe \leq 10$) mostrando alta precisão experimental. Por sua vez, as características r, EP, TSS e b apresentaram magnitudes intermediárias ($10 \leq CVe \leq 20$), mostrando boa precisão. Altas magnitudes ($20 \leq CVe \leq 30$) foram estimadas nas características FF, Croma, MF e muito altas ($CVe > 30$) em b^* e FP. As magnitudes altas e muito altas de CVe, observadas no presente estudo, indicam baixa precisão experimental, podem estar associadas à ampla variação que apresentam estas características. Assim, nas características de cor do epicarpo, elevados coeficientes podem estar associados à falta de uniformidade na maturação do fruto formando áreas verdes e maduras no epicarpo, o que leva a grandes variações na quantificação das cores nos sistemas CieLab e RGB.

Em relação às magnitudes do coeficiente de variação genética (CVg), o qual expressa em porcentagem a quantidade de variação genética existente, observaram-se magnitudes variando de baixas a altas (1,80 a 22,56%). Exceto para b^* e MF que apresentaram altas magnitudes, as demais características apresentaram magnitudes variando de baixas a moderadas (1,80 a 14,72%). Magnitudes moderadas foram obtidas para croma, r, b, FF e FP. Por sua vez, baixas magnitudes foram observadas nas características Hue, g, TSS e EP. As magnitudes moderadas e elevadas estimadas para características de grande importância para o melhoramento, FF e FP, indicam que é possível selecionar linhagens com boa firmeza com a adoção de procedimentos apropriados. Por outro lado, discreto ganho genético é esperado para características como TSS e

EP. Verifica-se que os valores de CVr variaram de 0,39 a 0,95. Valores acima da unidade propiciam inferências com acurácias e precisões altas e muito altas (Resende e Duarte, 2007). Magnitudes superiores à unidade não foram observadas no presente estudo, porém na característica MF foi estimada magnitude próxima à unidade (0,95). Para as características TSS, croma, b^* , EP, r, Hue e b foram obtidas magnitudes variando de 0,57 a 0,64%. Magnitudes superiores e próximas à unidade revelam uma situação favorável à seleção das linhagens para essas características, sugere que métodos simples podem ser utilizados e proporcionar consideráveis ganhos genéticos. Já para as características g, FF, FP métodos mais refinados envolvendo teste de progênies devem ser empregados na seleção de Linhagens.

Verifica-se que as características de cor b^* , hue, croma, r e b apresentaram magnitudes elevadas de herdabilidade ($h^2 > 50$), indicando a existência de expressiva variabilidade genética entre as linhagens para estas características. Moderadas magnitudes ($15 \leq h^2 \leq 50$), foram estimadas para g ($h^2 = 43,72$). As magnitudes elevadas e moderadas revelam que as variações de cor nos frutos durante o amadurecimento são devido a efeitos genéticos existentes entre as linhagens. Também indicam que estas características de cor podem ser utilizadas para diferenciar genótipos de mamoeiro.

Quanto às características de qualidade foram verificadas elevadas magnitudes de herdabilidade para as características FF, TSS, EP, MF e moderadas para FP, indicando a existência de expressiva variabilidade genética entre as linhagens para estes atributos.

As magnitudes diferentes observadas nas características relacionadas com a cor da superfície do fruto podem ser explicadas pela variabilidade quanto ao tempo de amadurecimento dos frutos. À medida que o fruto de mamão amadurece, sua cor muda de verde para amarelo ou de verde para vermelho dependendo do genótipo. No caso dos valores de RGB, por ser um sistema aditivo, amarelo é a soma de vermelho e verde explicando as magnitudes observadas para r e g. Os frutos foram coletados no estágio zero de maturação e avaliados após um repouso de quatro dias, o que indica que no momento da avaliação vários frutos já estavam em estádios mais avançados de maturação, em que a cor amarela na superfície ocupou a maior área. Entre as características de cor baseadas no sistema CieLab, os valores de b^* e Hue explicaram melhor a

variação existente entre as linhagens, mostrando que das variações de cor dos frutos durante o amadurecimento a mudança da cor verde para amarelo é devido aos efeitos genéticos.

Tabela 1. Estimativas de parâmetros genéticos para características de qualidade e cor da superfície de frutos de linhagens endogâmicas de mamoeiro

Característica	Parâmetros genéticos				
	h ²	CVe	CVg	CVr	Média
b*	64,08	37,77	22,56	0,60	11,43
Hue	65,98	9,09	5,66	0,62	128,95
Croma	63,13	25,16	14,72	0,59	14,64
r	65,41	19,19	11,80	0,62	0,28
g	43,72	4,56	1,80	0,39	0,44
b	67,31	16,09	10,33	0,64	0,28
FF (N)	51,15	27,63	12,64	0,46	103,02
FP (N)	47,69	32,27	13,78	0,43	79,16
TSS (°Brix)	62,22	14,00	8,04	0,57	10,80
EP (cm)	65,00	11,45	6,98	0,61	2,34
MF (g)	81,74	23,24	22,00	0,95	885,35

h² (%): herdabilidade com base na média das linhagens; CVe (%): Coeficiente de variação experimental; CVg (%): coeficiente de variação genotípica; CVr (%): coeficiente de variação relativo; b*: Coordenada cromática (azul-amarelo); Hue: medida angular da cor básica; Croma: saturação; r: valor normalizado de R; g: valor normalizado de G; b: valor normalizado de B; FF: Firmeza do fruto, expressa em N; FP: Firmeza da Polpa, expressa em N; TSS: Teor de sólidos solúveis, expressa em °Brix; EP: espessura da polpa; MF: Massa do fruto, expressa em g.

Em estudos de avaliação da cor em frutos de mamão avaliados na cultivar 'Maradol', os valores de b* foram bons indicadores de maturação para estádios iniciais, enquanto que os valores de a* foram melhores para os últimos estádios (Santamaría-Basulto et al.,2009). Estes autores também observaram que o valor b* foi um melhor indicador da maturação do estágio porque permite diferenciar entre frutos imaturos e aqueles que começam o processo de amadurecimento. No presente estudo, embora diferenças entre as linhagens quanto à maturação foram observadas, os estádios iniciais de maturação foram predominantes no momento

da avaliação. Assim, 50% dos frutos estavam entre os estádios 1 e 2, 30% no estágio 3 e 20% entre os estádios 4 e 5 de maturação. Portanto, o valor de b^* foi mais apropriado para descrever a variação da cor dos frutos das linhagens.

Embora colhidos no mesmo estágio e no mesmo dia, as taxas de amadurecimento dessas amostras foram diferentes. No presente estudo foi considerado que as diferentes taxas de amadurecimento são devido à diferenças genéticas existentes entre as linhagens, tendo genótipos com velocidades de amadurecimento de frutos distintas. Isto significa que a variabilidade genética quanto a velocidades de amadurecimento pode ser utilizada para selecionar linhagens com amadurecimento mais lento de tal forma que a vida da prateleira seja prolongada. Durante o amadurecimento a clorofila absorve a luz amarela tão fortemente que mascara outras cores intensas. Em seguida esta molécula é degradada em uma série de tetrapirroles incolores conhecidos como catabólitos de clorofila não fluorescentes (Muller et al., 2007). A biossíntese de outros pigmentos também ocorre, levando a um aumento de carotenóides, tais como β -caroteno, e ésteres de xantofilas tais como β -criptoxantina, violaxantina, luteína e fitoeno (Chandrika et al., 2003). Os carotenoides absorvem maximamente na região azul do espectro, isto é, comprimento de onda entre 460 – 500 nm, refletindo assim luz amarela a laranja. Uma vez que a degradação da clorofila bem como a síntese de carotenoides ocorre durante o amadurecimento, o fruto do mamão exibe o amolecimento da casca e o amarelecimento da sua polpa.

3.5.4.2 Estimativas de correlações fenotípicas e genotípicas

As estimativas das correlações fenotípicas (r_f) e genotípicas (r_g) obtidas entre as características de qualidade de frutos e os valores de cores dos sistemas RGB e Cielab encontram-se na tabela 2. Verifica-se que as características firmeza da polpa e firmeza do fruto foram correlacionadas negativamente com valores de cores de r , croma e b^* e positivamente com b e Hue. Além disso, as magnitudes foram elevadas e significativas ($0,70 \leq r \leq 0,89$; $p \leq 0,01$) o que indica uma associação forte e linear entre estas características. O sinal negativo indica uma associação inversa entre estas características e podem ser explicadas pelas mudanças que acontecem nos frutos durante o processo de maturação. Alterações de cor durante o amadurecimento vêm acompanhadas da diminuição

da firmeza dos frutos e aumento no teor de hidratos de carbono. A diminuição da firmeza pode ser explicada por um incremento na sensibilidade ao etileno do tecido do fruto e pela atividade de enzimas pectinases, tais como pectinametilesterase e poligalacturonase. Estas enzimas estão envolvidas na modificação da parede celular e na solubilização de pectina e hemicelulose (Gayoso-Garcia et al., 2010; Sancho, 2010).

No mamoeiro para firmeza da polpa e firmeza do fruto também foram observadas magnitudes elevadas de coeficientes de correlação entre os valores de r usando o sistema RGB (Domingo et al., 2012) e valores de b^* e Hue no sistema CieLab (Santamaría-Basulto et al., 2009). No entanto, estes autores avaliaram um genótipo só e as correlações estimadas foram fenotípicas, e no presente estudo correlações genéticas foram estimadas em população de melhoramento.

Em relação ao teor de sólidos solúveis (TSS) foram observadas correlações muito fracas ($0,0 \leq r \leq 0,19$) com os valores de b , hue, croma, r e b . Já para o valor g foi obtida uma magnitude de correlações fenotípicas e genotípicas fracas ($r = -0,26$). O sinal negativo para esta associação é esperado uma vez que o verde é a cor mais importante nos primeiros estádios de maturação onde os hidratos de carbono estão em pequenas concentrações. As baixas magnitudes podem ser explicadas porque o TSS não muda significativamente com o grau de maturação dos frutos. Isto é, uma vez que os frutos estão no ponto de colheita não há grandes mudanças do TSS. Um estudo relacionado com alterações fisiológicas e físico-químicas de frutos de mamão durante o amadurecimento mostrou que o teor de sólidos solúveis foi baixo no início da maturação (estádio 1) e aumentou significativamente no estágio 2, no entanto, não houve diferenças significativas em estádios avançados de maturação (Gayoso-Garcia et al., 2010). As pequenas alterações no teor de sólidos solúveis durante o amadurecimento podem ser devido ao baixo teor de amido (0,1-0,5%) presente nos frutos (Selvaraj et al., 1982; Mitra, 1997). A quantidade limitada de amido a ser hidrolisado durante o amadurecimento resulta em baixas concentrações de glicose, e conseqüentemente, em baixo teor de sólidos solúveis (Bron e Jacomino 2006).

Tabela 2. Estimativas dos coeficientes de correlação fenotípica (r_f) e genética (r_g) entre características de cor do epicarpo e de qualidade de frutos de mamoeiro

Car		Hue	C	r	g	b	FF	FP	TSS	EP	MF
b*	r_f	-0,95**	0,99**	0,93**	-0,30	-0,98**	-0,74**	-0,83**	0,06	-0,32	-0,45*
	r_g	-0,96**	0,99**	0,94**	-0,28	-0,99**	-0,76**	-0,88**	-0,07	-0,50*	-0,61*
Hue	r_f		-0,90**	-0,98**	0,49*	0,98**	0,77**	0,80**	-0,08	0,27	0,37
	r_g		-0,93**	-0,99**	0,47*	0,99**	0,78**	0,82**	0,01	0,40	0,49*
C	r_f			0,88**	-0,19	-0,96**	-0,71**	-0,82**	0,04	-0,33	-0,47*
	r_g			0,89**	-0,17	-0,97**	-0,74**	-0,89**	-0,10	-0,52*	-0,65*
r	r_f				-0,60*	-0,96**	-0,76**	-0,78**	0,12	-0,27	-0,33
	r_g				-0,59*	-0,97**	-0,76**	-0,79**	0,05	-0,40	-0,43
g	r_f					0,36	0,36	0,25	-0,26	0,10	-0,02
	r_g					0,37	0,26	0,10	-0,39	0,09	-0,07
b	r_f						0,75**	0,81**	-0,09	0,28	0,39
	r_g						0,78**	0,85**	0,03	0,44	0,53*
FF	r_f							0,83**	0,08	0,06	0,28
	r_g							0,89**	0,27	0,12	0,38
FP	r_f								0,14	0,33	0,44*
	r_g								0,38	0,57*	0,66*
TSS	r_f									-0,13	-0,18
	r_g									-0,19	-0,25
EP	r_f										0,75**
	r_g										0,79**

b*: Coordenada cromática (azul-amarelo); Hue: medida angular da cor básica; C: Croma ou saturação; r: valor normalizado de R; g: valor normalizado de G; b: valor normalizado de B; FF: Firmeza do fruto; FP: Firmeza da Polpa; TSS: Teor de sólidos solúveis; EP: espessura da polpa; MF: Massa do fruto. * e ** significativo, em nível de 5% e 1% de probabilidade pelo teste t, respectivamente.

As correlações genéticas fracas observadas entre FF e FP com o teor de sólidos solúveis ($r_g = 0,27$; $r_g=0,38$) confirmam que frutos com elevada firmeza apresentam baixo teor de sólidos solúveis. Em relação à massa do fruto (MF) e espessura da polpa (EP) foram observadas magnitudes moderadas de r_g ($0,40 \leq r \leq 0,65$) com os valores de b*, hue, r, croma e b, respectivamente. Com exceção de hue e b as demais características foram correlacionadas negativamente com MF e EP. Os sinais negativos são esperados uma vez que os frutos verdes apresentam maior massa em relação aos frutos maduros. Valores de b* e r indicam a quantidade verde presente na superfície dos frutos. A maior MF nos

estádios iniciais é devido à maior concentração de moléculas de pectinas e hemicelulose da parede celular. Já as magnitudes moderadas observadas entre a EP e as características de cor podem ser explicadas pela correlação forte ($r_g = 0,79$) existente entre a massa do fruto e a espessura. Assim, os frutos mais pesados estão associados com elevada espessura da polpa.

Estes resultados mostram que variações da cor da superfície de frutos de mamão estão correlacionadas fortemente com a firmeza, com implicações positivas para o melhoramento uma vez que possibilitam a estimação indireta destes atributos determinados por imagens digitais. No mamoeiro, as firmezas do fruto e da polpa são determinadas por métodos destrutivos. As metodologias baseadas em imagens digitais permitem avaliar a maturação dos frutos sem destruir os mesmos. Além disso, a determinação das cores pela análise de imagens tem sido mais eficiente do que o colorímetro, um aparelho muito utilizado na avaliação das cores dos frutos. Isto foi evidenciado na calibração do aplicativo TACT utilizado no presente estudo. Darrigues (2008) desenvolveu o referido aplicativo para avaliar a cor de frutos de tomate. Este autor verificou que em comparação com os dados coletados com o colorímetro, a proporção de variância fenotípica total atribuída à variância genotípica foi significativamente maior para todas as características de cor obtidas com o aplicativo TACT. A quantificação da cor pela imagem é mais precisa porque abrange toda a superfície do fruto, ao invés de estimar a diferença entre dois pontos no fruto como realizada pelo colorímetro. Além disso, a análise de imagens é uma metodologia barata, que fornece avaliações em larga escala, não requer experiência do avaliador pelo fato de quantificar as cores por algoritmos de computador.

3.5.5 CONCLUSÕES

1. As características firmeza da polpa e firmeza do fruto apresentaram elevados e moderados coeficientes de correlação genética com as características de cor b^* , Hue, Croma, r e b .

2. As características espessura da polpa e massa do fruto apresentaram coeficientes de correlação genética intermediários com as características b^* e Croma.
3. As magnitudes dos coeficientes de correlação observados entre características de qualidade do fruto e características de cor indicam que análises quantitativas de variações de cor dos frutos durante o amadurecimento, podem ser exploradas utilizando visão computacional.
4. O teor de sólidos solúveis apresentou baixos coeficientes de correlação genética com as características de cor por apresentar poucas variações durante o amadurecimento dos frutos.
5. As características de cor Hue, croma e b^* do sistema CieLab podem ser utilizadas na avaliação indireta da firmeza do fruto, firmeza da polpa, massa do fruto e espessura da polpa possibilitando mensurações não destrutivas e em larga escala aprimorando a fenotipagem das populações de melhoramento genético.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adobe Systems. (2002) *Adobe Photoshop 7. User Guide*. San Jose, CA: Adobe Systems, Inc. 581 p.
- Aggelopoulou, A. D., Bochtis, D., Fountas, S., Swain, K.C., Gemtos, T.A., Nanos, G.D. (2011) Yield prediction in apple orchards based on image processing. *Precision Agriculture*, 12: 448-56.
- Allard, R.W. (1971) *Princípios do melhoramento genético de plantas*, 2º Ed. São Paulo: Edgar Blucher, 381p.
- Amarasinghe, D.I., Sonnadara, D.U.J. (2009) Surface colour variation of papaya fruits with maturity. Sri Lanka Research. *Proceedings of the Technical Sessions*, 25:21-28.
- Andrade-Sanchez, P.M.A., Gore, J.T, Heun, K.R., Thorp, A.E., Carmo-Silva, A.N., French, M.E., Salvucci, J.W. (2014) White Development and evaluation of a field-based high-throughput phenotyping platform. *Plant Biology*, 41: 68–79.
- Arango, L.; C. Román, C.; Salamanca, E.; Almansa, J. Bernal, and P. Gómez. (2010) El cultivo de la papaya en Los Llanos Orientales de Colombia. Technical Assistance Manual No. 4. Corpoica; Sena; Asohofrucol, Bogotá.

- Arjenaki, O.O.; Asad, M.M.; Parviz, A.M. (2012) A new method for estimating surface area of cylindrical fruits (zucchini) using digital image processing. *Australian Journal of Crop Science*, 6: 1332-1336.
- Badillo, V.M. (1971) *Monografía de la familia Caricaceae*. Maracay - Venezuela: Editorial Nuestra América, C.A, 221p.
- Badillo, V. M. (1993) Caricaceae – Segundo esquema. *Revista de La facultad de agronomía de La Universidad Central de Venezuela*. Macaray, 64p.
- Badillo, V.M. (2000) *Carica L. vs Vasconcella St.Hil. (Caricaceae)*: con la rehabilitación de este último. *Ernsti*,10: 74-79.
- Barros, G. B. A., Aredes, F. A. S., Ramos, H. C. C., Santa-Catarina, R.; Pereira, M. G. (2017) Combining ability of recombinant lines of papaya from backcrossing for sexual conversion. *Revista Ciência Agronômica*, 48 (1): 166-174.
- Barbosa, C.D., Viana, A.P., Quintal, S.S.R., Pereira, M.G. (2011) Artificial neural network analysis of genetic diversity in *Carica papaya* L. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 11: 224-231.
- Bered, F., Barbosa-Neto, J.F., Carvalho, F.I.F. (2002) Genetic variability in common wheat germplasm based on coefficients of parentage. *Genetics and Molecular Biology*, 25(2) 211-215.
- Bespalhok, J. C., Guerra, E. P., Oliveira, R. A. (1999) Melhoramento de plantas autógamias por seleção. In: Destro, D. e Montalván, R. (Org.) Melhoramento genético de plantas. Londrina: UEL, 818p.
- Bland, J.M., Altman, D.G. (1999) Measuring agreement in method comparison studies. *Statistical Methods in Medical Research*, 8: 135-160.
- Brewer, M.T., Lang, L.X., Fujimura, K., Dujmovic, N., Gray., Van der Knaap, E. (2006) Development of a controlled vocabulary and software application to

- analyze fruit shape variation in tomato and other plant species. *Plant Physiology*, 141:15–25.
- Bron, I.U., Jacomino, A.P. (2006) Ripening and quality of ‘Golden’ papaya fruit harvested at different maturity stage. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(3): 389–396.
- Campostrini, E., Glenn, D.M., Yamanishi, O.K. (2010) Papaya: environment and crop physiology. p. 287-308. In: F. da Matta., editor. *Ecophysiology of Tropical Tree Crops (Agriculture issues and Policies)*. 1ed. Nova Science Publishers, New York, USA.
- Cattaneo, L. F. (2001) *Avaliação da divergência genética e análise de gerações em mamoeiro (Carica papaya L.)*. Tese de Doutorado, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 94p.
- Carbonell, S. A. M.; Chiorato, A. F.; Gonçalves, J. G. R.; Perina, E. F.; Carvalho, C. R. L. 2010. Tamanho de grão comercial em cultivares de feijoeiro. *Ciência Rural*, 40: 2067-2073.
- Cardoso, D.L., Luz, L.N., Macêdo, C. M.P., Gonçalves, L.S.A., Pereira, M.G. (2014) Heterosis in papaya: inter and intragroup analysis. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(3): 610-619.
- Carvalho, F.A., Renner, S.S. (2012) A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae) reveals the crop’s closest relatives and the family’s biogeographic history. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 65:46–53.
- Cavalcanti, J.J.V., Resende, M.D.V., Crisóstomo, J.R., Barros, L.M., Paiva, J.R. (2007) Genetic control of quantitative traits and hybrid breeding strategies for cashew improvement. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 7:186-195.

- Chandrika, U.G., Wickramasinghe, E.R., Warnasuriya, N.D. (2003) Carotenoids in yellow- and red-fleshed papaya (*Carica papaya* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83: 1279–1282.
- Chen, D., Neumann, K.S., Friedel, S.B., Kilian, M., Altmann, T., Klukas, C. (2014) Dissecting the phenotypic components of crop plant growth and drought responses based on hi-throughput image analysis. *The Plant Cell*, 26: 4636-4655.
- Costa, A.F.S.; Pacova, B.E.V. Caracterização de cultivares, estratégias e perspectivas do melhoramento genético do mamoeiro, In Martins DS; Costa AFS (eds.) A cultura do mamão: tecnologia e produção. INCAPER, Vitória, 2003, p. 59-102.
- Cruz, C.D. (2013) GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 25(3): 271-276.
- Cruz, C. D., Regazzi, A. J., Carneiro, P. C. S. (2014) *Métodos biométricos aplicados ao melhoramento genético*: volume 2. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária. 668p.
- Damasceno Junior, P. C., Costa, F.R., Pereira, T.N.S., Neto, M.F., Pereira, M.G. (2009a) Karyotype determination in three Caricaceae espécies em phasizing the cultivated form (*Carica papaya* L.). *Caryologia*, 62:10-15.
- Damasceno Junior, P.C., Pereira, T.N.S., Pereira, M.G., Silva, F.F., Souza. M.M., Nicoli, R.G. (2009b) Preferential reproduction mode of hermaphrodite papaya plant (*Carica papaya* L; *Caricaceae*). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 31 (1): 182-189.
- Damasceno Junior, P. C.; Pereira, T.N.S.; Neto, M.F.; Pereira, M.G. 2010. Meiotic behavior of *Carica papaya* and *Vasconcellea monoica*. *Caryologia*. 63: 229-236.

- Dantas, J.L.L., Lima, J.F. (2001) Seleção e recomendação de variedades de mamoeiro: avaliação de linhagens e híbridos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 3: 617-621.
- Danner, M.A., Raseira, M.C.B., Sasso, S.A.Z., Citadin, I., Scariot, S. (2010a) Repetibilidade de peso de fruto e de duração de ciclo em ameixeira e pessegueiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 45(8): 872-878.
- Darrigues, A. (2008) Tomato analyzer-color test: A new tool for efficient digital phenotyping. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 133(4): 579-586.
- Della Bruna, E., Moreto, A.L., 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(1): 206-215.
- Dias, N.L.P., Oliveira, E.J., Dantas, J.L.L. (2011) Evaluation of papaya genotypes using agronomic descriptors and estimation of genetic parameters. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46(11): 1471-1479.
- Domingo, D.L., Serrano, B.P., Serrano, E.P., del Rosario, E.J. (2012) Digital photometric method for determining degree of harvest maturity and ripeness of 'Sinta' papaya (*Carica papaya* L.) fruits. *The Philippine Agricultural Scientist*, 95(3): 252-259.
- Dorj, U., Malrey, L., Sangsub, H. (2013) A Comparative Study on Tangerine Detection, Counting and Yield Estimation Algorithm. *International Journal of Security and Its Applications*, 7: 405-412.
- Fadel, M., Kurmestegy, M., Rashed, M., Rashed, Z. (2006) Fruit Colour Properties of Different Cultivars of Dates. *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal*. VIII. March, 2006.
- Falconer, D. S. *Introdução à genética quantitativa*. Viçosa, MG: UFV, 1987, 279 p.

- Falconer, D.S., Mackay, T.F.C. (1996) *Introduction to quantitative genetics*. 4th ed. Essex (UK): Longmans Green, Harlow, 480 p.
- Farias Neto, J. T., Lins, P. M. P., Resende, M. D. V., Muller, A. A. (2009) Seleção genética em progênies híbridas de coqueiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 31(1): 190-196.
- Fagundes, G. R., Yamanishi, O. K. (2001) Características físicas e químicas de frutos de mamoeiro do grupo solo comercializado em quatro estabelecimentos de Brasília DF. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23: 541-545.
- Fehr, W.R. *Principles of cultivar development: theory and technique*. New York: Mcmillan Publishing, 1987, 536 p.
- Ferrão, R. G., Cruz, C.D., Ferreira, A., Cecon, P.R., Ferrão, M.A.G., Fonseca, A.F.A., Carneiro, P.C.S., Silva, M.F. (2008) Genetic parameters in Conilon coffee. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43: 61–69.
- Ferreira, R.T., Viana, A.P., Barroso, D.G., Resende, M.D.V., Amaral Júnior, A.T. (2012) *Toona ciliata* genotype selection with the use of individual BLUP with repeated measures. *Scientia Agricola*, 69: 210-216.
- Ferreira, R. T., Viana, A. P., Silva, F. H. L., Santos, E. A., Santos, J. O. (2016) Seleção recorrente intrapopulacional em maracujazeiro-azedo via modelos mistos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 38(1): 158-166.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. 2017. FAOSTAT. Disponível em: <<http://faostat.fao.org.in>> [Acessado em Janeiro 25, 2017].
- Forbes, K.A., Tattersfield, G.M. (1999) Estimating Fruit Volume from Digital Images. In 1999 IEEE Africon. 5th Africon Conference in Africa (Cat. No.99CH36342), IEEE, 107–12.

- Gayoso-Garcia, S., Yahia, E.M., Tellez, M.A., Aguilar, G.A. (2010) Effect of maturity stage of papaya 'Maradol' on physiological and biochemical parameters. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 5(2): 194–203.
- Gonzalez, R.C., Woods, R.E. (2000) *Digital Image Processing*. 2nd edition, Prentice Hall, New Jersey, USA. 954p.
- Gunasekaran, S. (2000) *Nondestructive Food Evaluation: Techniques to Analyze Properties and Quality*. 1st edition, CRC Press, New York, USA, 440p.
- Han, Di. (2011) Tree Height Measurement based on Image Processing with 3-points Correction. Proceedings of the International Conference on Computer Science and Network Technology, Harbin, China, 2011. 2281–2284p.
- Hallauer, A.R., Carena, M.J., Filho, J.B.M. (2010) Means and variances. In: Hallauer, A.R.; Carena, M.J.; Filho, J.B.M., eds, *Quantitative Genetics in Maize Breeding*. Springer, New York, USA, 33-68p.
- Hardner, C.M., Bally, I.S.E., Wright, C.L. (2012) Prediction of breeding values for average fruit weight in mango using a multivariate individual mixed model. *Euphytica*, 186:463–477.
- Harville, D.A., Carriquiry, A.L. (1992) Classical and Bayesian prediction as applied to unbalanced mixed linear models. *Biometrics*, Washington, 48:987-1003.
- Hazel, L. N. (1943) The genetic basis for constructing selection indexes. *Genetic*, 28: 476-490.
- Heffner, E. L., Sorrells, M. E., Jannink, J. (2009) Genomic Selection for Crop Improvement. *Crop Science*, 49:1-12.
- Holfmeyr, J. D. J. (1938) Genetical studies of *Carica papaya*. I – The inheritance and relation of sex and certain plant characteristics. II – Sex reversal and se forms. *South African Department Agricultural Science Bull*, 187: 1-64.

- Honsdorf, N., Timothy, J. M., Berger, B., Tester, M., Pillen, K. (2014) High-Throughput Phenotyping to Detect Drought Tolerance QTL in Wild Barley Introgression Lines. *Plos One*, 9(5): 1-13.
- IBGE. (2016) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://downloads.ibge.gov.br/downloads_estatisticas.htm/>. Acessado em 18 de Maio de 2016.
- Ide, C.D., Pereira, M.G., Viana, A.P., Pereira, T.N.S. (2009) Use of testers for combining ability and selection of papaya hybrids. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 1:60-66.
- Instituto Nacional de Meteorologia - INMET. Banco de dados meteorológicos para ensino e pesquisa. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/>>. Acessado em 18 de novembro de 2016.
- Johnson, R.A.; Wickern, D.W. (1988) *Applied multivariate statistical analysis*. Englewood Cliffs, Prentice Hall, 607p.
- Kader, A.A., Sommer, N.F., Arpaia, M.L. (2002) *Postharvest handling systems of tropical fruits*. In: Kader, A.A, editor. *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. 3rd ed.
- Karunakaran, G., Ravishankar, H., Dinesh, M.R. (2010) Genetical studies in papaya (*Carica papaya* L). *Acta Horticulturae*, 851:103-108.
- Kim, H.S., Ward, R.W. (1997) Genetic diversity in Eastern U.S. soft winter wheat (*Triticum aestivum* L.) based on RFLPs and coefficient of parentage. *Theoretical and Applied Genetics*, 94: 472-479.
- Khojastehnazhand, M., Omid, M., Tabatabaeefar. A. (2009) Determination of orange volume and surface area using image processing technique. *International Agrophysics*, 2000: 237-242.

- Koc, A.B. (2007) Determination of watermelon volume using ellipsoid approximation and image processing. *Postharvest Biology and Technology*, 45: 366-371.
- Kouassi, A.B., Durel, C.E., Costa, F., Tartarini, S., van de Weg, E., Evans, K., Fernandez-Fernandez, F., Govan, C., Boudichevskaja, A., Dunemann, F., Antofie, A., Lateur, M., Stankiewicz-Kosyl, M., Soska, A., Tomala, K., Lewandowski, M., Rutkovski, K., Zurawicz, E., Guerra, W., Laurens, F. (2009) Estimation of genetic parameters and prediction of breeding values for apple fruit-quality traits using pedigreed plant material in Europe. *Tree Genetics and Genomes*, 5:659–672.
- Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0. *Molecular Biology and Evolution*. 33:1870-1874.
- Li, L.; Qin, Z., Danfeng, H. 2014. A Review of Imaging Techniques for Plant Phenotyping. *Sensors*, 14: 20078-20111.
- Lopes, R., Bruckner, C.H., Cruz, C.D.; Lopes, M.T.G., Freitas, G.B. (2001) Repetibilidade de características do fruto de aceroleira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36: (3): 507-513.
- López Camelo, A. F.; Gómez, P. A. 2004. Comparison of color indexes for tomato ripening. *Horticultura Brasileira*, 22(3): 534–537.
- Lopez, G., Pallas, B., Martinez, S., Lauri, P.E., Regnard, J.L., Durel, C.E., Costes, E. (2015) Genetic variation of morphological traits and transpiration in an apple core collection under well-watered conditions: towards the identification of morphotypes with high water use efficiency. *PLoS One*, 10 (12): e0145540.
- Lorencetti, C., Carvalho, F. I. F., Oliveira, A. C., Valério, I. P., Hartwig, I., Marchioro, V. S., Vieira, E. A. (2006) Backcross as a strategy to identify genotypes and develop promising oat segregation population. *Ciência Rural*, 36: 1118-1125.

- Luz, L. N., Pereira, M. G., Barros, F. B., Barros, G. B., Fereguetti, G. A. (2015) Novos híbridos de mamoeiro avaliados nas condições de cultivo tradicional e no semiárido brasileiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 37 (1): 159-171.
- Maia, M.C.C., Resende, M.D.V., Oliveira, L.C. de., Álvares, V. de S., Maciel, V.T., Lima, A.C. de. (2011) Seleção de clones experimentais de cupuaçu para características agroindustriais via modelos mistos. *Revista Agro@ambiente on-line*, 5: 35-43.
- Marin, S.L.D., Pereira, M.G., Amaral Junior, A.T., Marteletto, L.A.P., Ide, C.D. (2006a) Heterosis in papaya hybrids from partial diallel of Solo and Formosa parents. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 1: 24-29.
- Marin, S.L.D., Pereira, M.G., Amaral Junior, A.T., Marteletto, L.A.P., Ide, C.D. (2006b) Partial diallel to evaluate the combining ability for economically important traits of papaya. *Scientia Agricola, Piracicaba*, 6: 540-546.
- Mendoza, F., Dejmek, P., Aguilera, J.M. (2006) Calibrated colour measurements of agricultural foods using image analysis. *Postharvest Biology Technology*, 41: 285–295.
- Merk, H.L., Yarnes, S.C., Van Deynze, A., Tong, N., Menda, N. (2012) Trait diversity and potential for selection indices based on variation among regionally adapted processing tomato germplasm. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 137(6):427–437.
- Miller, J., Morgenroth, J., Gomez, C. (2015) 3D modelling of individual trees using handheld camera: Accuracy of height, diameter and volume estimates. *Urban Forestry and Urban Greening*, 14: 932-940.
- Ming, R., Yu, Q., Moore, P.H. (2007) Sex determination in papaya. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 18: 401–408.

- Miranda, M.A.C., N.R. Braga., A.L. Lourenção., F.T.S. Miranda., S.H. Unêda., M.F. Ito. (2003) Description, yield and stability of early soybean insect resistant cultivar IAC-24. *Bragantia*, 62:29-37.
- Mitra, S.K. (1997) *Postharvest Physiology and Storage of Tropical and Subtropical Fruits*. UK: CAB International, 420 p.
- Muller, T., Ulrich, M., Ongania, K.H., Krautler, B. (2007) Colorless tetrapyrrolic chlorophyll catabolites found in ripening fruit are effective antioxidants. *Angewandte Chemie International Edition*, 46(45): 8699–8702.
- Muthulakshmi, S., Balamohan, T.N., Amutha, R., Rani, W. B., Indira,K., Mareeswari, P. (2007) Interspecific hybridization in papaya (*Carica papaya* L.). *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 3 (4): 260–263.
- 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*, 44 (6): 605-612.
- Neves, L.G., Bruckner, C.H., Cruz, C.D., Barelli, M.A.A. (2010) Avaliação da repetibilidade no melhoramento de famílias de maracujazeiro. *Revista Ceres*, 57(4): 480-485.
- Negreiros, J.R. da S., Neto, R. de C.A., Miqueloni, D.P., Lessa, L.S. (2014) Estimativas de repetibilidade para caracteres de qualidade de frutos de laranja-doce. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 49 (1): 40-48.
- Oliveira, J.G., Vitória, A.P. (2011) Papaya Nutritional and pharmacological characterization, and quality loss due to physiological disorders. An overview. *Food Research*, 4 (5): 1306–1313.
- Oliveira, E. J., Filho, G. A. F., Freitas, J. P. X., Dantas, J. L. L., Resende, M. D. V. (2012) Plant selection in F₂ segregating populations of papaya from commercial hybrids. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 12:191-198.

- Paiva, J.R., Cordeiro, E.R., Corrêa, M.C.M., Resende, M.C.V. (2007) Acerola Plant Selection and Breeding Value Prediction in Second Selection Cycle Progenies. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 7:125-132.
- Pandey, R., Naik, S., Marfatia, R. (2013) Image Processing and Machine Learning for Automated Fruit Grading System: A Technical Review. *International Journal of Computer Applications*, 81(16): 29–39.
- Parent, B., Shahinnia, F., Maphosa, L., Berger, B., Rabie, H., Ken, H., Kovalchuk, A., Langridge, P., Fleury, D. (2015) Combining field performance with controlled environment plant imaging to identify the genetic control of growth and transpiration underlying yield response to water-deficit stress in wheat. *Journal of Experimental Botany*, 66: 5481-5492.
- Patterson, H.D., Thompson, R. (1971) Recovery of interblock information when block sizes are unequal. *Biometrika*, 58: 545-554.
- Pauli, D., Sanchez-Andrade, P., Carmo-Silva, E., Gazave, E., French, A.N., Heun, J., Hunsaker, D.J., Lipka, A.E., Setter, T.L., Strand, R.J., Thorp, K.R., Wang, S., White, J.W., Gore, M.A. (2016) Field-Based High-Throughput Plant Phenotyping Reveals the Temporal Patterns of Quantitative Trait Loci Associated with Stress-Responsive Traits in Cotton. *G3*: 865-879.
- Payne, A.B., Walsh, K.B., Subedi, P.P., Darvis, P.P. (2013) Estimation of mango crop yield using image analysis - Segmentation method. *Computers and Electronics in Agriculture*, 91: 57-64.
- Pereira, M. G., Ferregueti, G. A., Pereira, T. N. S., Ramos, H. C. C., Cortes, D. F. M., Santa-Catarina, R., Luz, L. N., Barros, G. B. A., Arêdes, F. A. S., Boechat, M. S. B., Silveira, S. F., Oliveira, J. G. Melhoria Genética do Mamoeiro: Programa UENF/CALIMAN. In: David dos Santos Martins. (Org.). VI Simpósio do Papaya Brasileiro. 1ed. Vitória, ES: DCM/Incaper, 2015, v. 6, p. 01-41.

- Pinto, F.D. O., Da Luz, L.N., Pereira, M.G., Cardoso, D. L., Ramos, H. C. C. (2013) Mixed model for combining selection in segregate progeny of papaya. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 8 (2): 211-217.
- Pires, M. R. G., Horst, B.C.H., Pereira, S. D. F., Carneiro, P. C. S., Silva, J. O.C. (2015) Repetibilidade de caracteres de fruto em pessegueiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 37(4): 1001-1008.
- Plazas, M.M.P., López-Gresa, S., Vilanova, C., Torres, M., Hurtado, P. Gramazio, I., Andújar., Herráiz, F.J., Bellés, J.M., Prohens, J. (2013) Diversity and relationships in key traits for functional and apparent quality in a collection of eggplant: Fruit phenolic content, antioxidant activity, polyphenol oxidase activity, and browning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 8871–8879.
- Pompeu Junior, J., Blumer, S., Resende, M. D. V. (2013) Avaliação genética de seleções e híbridos de limões cravo, volkameriano e rugoso como porta-enxertos para laranjeiras Valência na presença da morte súbita dos citros. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35(1): 199-209.
- Quintal, S.S.R. (2009) *Caracterização e avaliação de um banco de germoplasma de mamoeiro para estudo dos parâmetros genéticos e diversidade genética*. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF. Campos dos Goytacazes – RJ, 2009, 168p. (Dissertação de Mestrado).
- Quintal, S. S. R., Viana, A. P., Gonçalves, L. S. A., Pereira, M. G., Amaral Júnior, A. T. (2012) Divergência genética entre acessos de mamoeiro por meio de variáveis morfoagronômicas. *Semina: Ciências Agrárias*, 33 (1): 131-142.
- Rahaman, M. M., Chen, D., Gillani, Z., Klukas, C., Chen, M. (2015) Advanced phenotyping and phenotype data analysis for the study of plant growth and development. *Frontiers in Plant Science*, 10: 1-15.
- Ramos, H. C. C., Pereira, M. G., Gonçalves, L. S. A., Berilli, A. P. C. G., Pinto, F. O., Ribeiro, E. H. (2012) Multivariate analysis to determine the genetic distance

- among backcross papaya (*Carica papaya* L.) progenies. *Genetics and Molecular Research*, 11(2): 1280-1295.
- Ramos, H. C. C., Pereira, M. G., Viana, A. P; Luz, L. N., Cardoso, D. L., Ferreguetti, G. A. (2014a) Combined Selection in Backcross Population of Papaya (*Carica papaya*. L.) by the Mixed Model Methodology. *American Journal of Plant Sciences*, 5: 2973-2983.
- Ramos, H. C. C., Pereira, M. G., Pereira, T. S. N., Barros, G. B. A., Ferreguetti, G. A. (2014b) Characterization of genetic-molecular variability of papaya population based on microsatellite markers. *Genetic and Molecular Research*. 13 (4): 10367-10381.
- Rashidi, M., Sayfi, K., Gholami, M. (2007) Determination of kiwifruit volume using image processing. *World Applied Sciences Journal*, 3 (2): 184-190.
- Rashidi, M., Gholami, M., Abbassi, S. (2009) Cantaloupe volume determination through image processing. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 11: 623-631.
- Resende, M. D. V., Higa, A. R. (1994) Estimação de valores genéticos no melhoramento de Eucalyptus: seleção em um caráter com base em informações do indivíduo e de seus parentes. *Boletim de Pesquisas Florestais*, Curitiba, n. 28/29, p. 11-35.
- Resende, M. D. V. (1995) Delineamento de experimentos de seleção para maximização da acurácia seletiva e do progresso genético. *Revista Árvore*, Viçosa. 19(4): 479-500.
- Resende, M. D. V., Fernandes, J. S. C. (1999) Procedimento BLUP individual para delineamentos experimentais aplicados ao melhoramento florestal. *Revista de Matemática e Estatística*, Marília, 17: 87-109.

- Resende, M.D.V., Dias, L.A.S. (2000) Aplicação da metodologia de modelos mistos (REML/BLUP) na estimação de parâmetros genéticos e predição de valores genéticos e aditivos e genotípicos em espécies frutíferas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 22(1): 44-52.
- Resende, M.D.V. *Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 975 p.
- Resende, M. D. V. (2004) Métodos Estatísticos Ótimos na Análise de Experimentos de Campo. Documentos, 100. Colombo: Embrapa Florestas.14-36p.
- Resende, M. D.V., Thompson, R., Welham, S.J. (2006) Multivariate spatial statistical analysis of longitudinal data in perennial crops. *Revista de matemática e estatística*, 24 (1): 147–69.
- Resende, M. D. V., Duarte, J. B. (2007) Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 37(3): 182-194.
- Resende, M. D. V. (2007) Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético. Colombo: Embrapa Florestas, 362p.
- Resende, M. D. V. (2016) Software Selegen-REML/BLUP: a useful tool for plant breeding. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 16(4): 330-339.
- Riyadi, S., M, Mustafa., Aini, H., Azman, H. (2007) Papaya fruit grading based on size using image analysis. Proceeding of the International Conference on Electrical Engineering and Informatics. 2007: 645-648.
- Roscher, R., Herzog, K., Kunkel, A., Kicherer, A., Töpfer, R., Förstner, W. (2014) Automated image analysis framework for high-throughput determination of grapevine berry sizes using conditional random fields. *Computers and Electronics in Agriculture*, 100: 148-158.

- Ruiz, L.A., Molto, E., Juste, F., Pla, F. Valiente, R. (1996) Location and characterization of the stem calyx area on oranges by computer vision. *Journal Agricultural Engineer Research*, 64: 165–172.
- Sabliov, C.M., Boldor, D., Keener, K.M., Farkas, B.E. (2002) Image processing method to determine surface area and volume of axi-symmetric agricultural products. *International Journal of Food Properties*, 5: 641-653.
- Saitou, N., Nei, M. (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4: 406-425.
- Sancho, LE. (2010) Effect of maturity stage of papaya 'Maradol' on physiological and biochemical parameters. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 34: 194–203.
- Santa-Catarina, R. *Capacidade combinatória, heterose de linhagens Endogâmicas recombinantes e análise de imagens digitais em mamoeiro (Carica papaya L.)*. 2016. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF. Campos dos Goytacazes – RJ, 2016, 70p. (Dissertação de Mestrado).
- Santamaría-Basulto, F., Sauri-Duch, E., Espadas, G, F., Díaz- Plaza, R., Larqué-Saavedra, A., Santamaría, J. (2009) Postharvest ripening and maturity indices for Maradol papaya. *Interciência*, 34, 583–588.
- Saran, P. L., Choudhary, R., Solanki, I. S., Patil, P., Kumar, S. (2015) Genetic variability and relationship studies in new Indian papaya (*Carica papaya* L.) germplasm using morphological and molecular markers. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry, Erzurum*, 39: 310-321.
- Savy Filho, A., Amorim, E.P., Ramos, N.P., Martins, A.L.M., Cavichioli, J.C. (2007) IAC-2028: new castor bean cultivar. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 42: 449–452.

- Scheeren, P.L., Caierão, E., Silva, M.S. e., Del Duca, L. de J.A., Nascimento Junior, A. do., Linhares, A., Eichelberger, L. (2007) BRS Guamirim: cultivar de trigo da classe pão, precoce e de baixa estatura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42: 293-296.
- Selveraj, Y., Subramanyan, M.D., Iyer, C.P.A. (1982) Changes in the chemical composition of four cultivars of papaya (*Carica papaya* L.) during growth and development. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 57: 135–143.
- Shimizu, A., Yamada, S., Arita, Y. (2014) Diameter Measurements of the Upper Parts of Trees Using an Ultra-Telephoto Digital Photography System. *Open Journal of Forestry*, 4: 316-326.
- Silva, F.F., Pereira, M.G., Ramos, H.C.C., Damasceno Júnior, P.C., Pereira, T.N.S., Gabriel, A.P.C., Viana, A.P., Ferregueti, G.A. (2008) Selection and estimation of the genetic gain in segregating generations of papaya (*Carica papaya* L.). *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 8: 1-8.
- Silva, F.F., Pereira, M.G., Campos, W.F., Damasceno Júnior, P.C., Pereira, T.N.S., Souza Filho, G.A., Ramos, H.C.C., Viana, A.P., Ferregueti, G.A. (2007a) DNA marker-assisted sex conversion in elite papaya genotype (*Carica papaya* L.). *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 7: 52-58.
- Silva, R. G., Moura, M. C. L. C., Arnhold, E., Cruz, D. C. (2010) Repetibilidade e correlação fenotípicas de caracteres do fruto de bacuri no estado do Maranhão. *Acta Scientiarum Agronomy*, 31:587-591.
- Singh, D. (1981) The relative importance of characters affecting genetic divergence. *The Indian Journal of Genetics e Plant Breeding*, 41: 237-245.
- Siqueira, J.D.P., Lisboa, R.S., Ferreira, A.M., Souza, M.F.R., Araújo, E., Lisboa Júnior, L., Siqueira, M.M. (2004) Estudo ambiental para os programas de

fomento florestal da Aracruz Celulose S.A. e extensão florestal do governo do estado do Espírito Santo. *Floresta, especial*, 34(2): 3-67.

Siswantoro, J., Prabuwo, A.S., Abdullah, A., Idrus, B. (2014) Monte Carlo Method with Heuristic Adjustment for Irregularly Shaped Food Product Volume Measurement. *The Scientific World Journal*, 2014: 1-10.

Soares, E.B., Gomes, R.L.F., Campelo, J.E.G., Lopes, Â.C. de A., Matos Filho, C.H.A. (2008) Repetibilidade e correlações entre caracteres morfoagronômicas de cajazeira. *Ciência e Agrotecnologia, Lavras*, 32(6):1851-1857.

Sokal, R.R., Rohlf, F.J. (1962) The comparison of dendrograms by objective methods. *Taxon*, 11: 33-40.

Smith, H. F. (1936) A discriminant function for plant selection. *Annals of Eugenics*, 7:240-250.

Sritarapat, T., Rakwatin, P., Kasetkasem, T. (2014) Automatic Rice Crop Height Measurement Using a Field Server and Digital Image Processing. *Sensors*, 14(1): 900-926.

Storey, W.B. (1941) The botany and sex relationships of the papaya. In: Papaya production in the Hawaiian Islands. *Hawaii Agricultural Experiment Station, Bulletin*, 87: 5-22.

Storey, W.B. (1953) Genetics of the papaya. *Journal of Heredity*, 44 (2): 70-78.

Sturion, J.A., Resende, M.D.V. (2004) Eficiência do delineamento experimental e capacidade de teste no melhoramento genético da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). *Boletim de Pesquisa Florestal, Colombo*. 50:3-10.

Sudha, R., Balamohan, T.N., Soorianathasundaram, K., Manivannan, N., Rabindran, R. (2013) Evaluation of F₂ intergeneric population of papaya (*Carica papaya* L.)

for resistance to papaya ringspot virus (PRSV). *Scientia Horticulturae*, 158: 68-74.

- Tucker, G.A., Grierson, D. (1987) Fruit ripening. In: Davies D, editor. *The Biochemistry of Plants*. New York: Academic Press Inc. 12: 265–319.
- Vázquez, M., Zavala, M., Contreras, F., Espadas, F., Navarrete, A., Sánchez, L. Santamaria, J.M. (2014) New cultivars derived from crosses between commercial cultivar and a wild population of Papaya rescued at its center of origin. *Journal of Botany*, 2014:1-10.
- Viana, A.P., Resende, M.D.V. (2014) *Genética quantitativa no melhoramento de fruteiras*. 1. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 296p.
- Vivas, M., Silveira, S. F., Terra, C. E. P. S., Pereira, M. G. (2011) Testers for combining ability and selection of papaya hybrids resistant to fungal diseases. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 11(1): 36-42.
- Vivas, M., Silveira, S.F., Amaral Júnior, A.T., Cardoso, D.L., Pereira, M.G. (2013) Herança da resistência do mamoeiro a doenças fúngicas com base em análise dialélica de Hayman. *Bragantia*, 72 (4): 332-337.
- Zhang, Z. (2000). A flexible new technique for camera calibration. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 22: 1330-1334.
- Zhang, X., Hause, R.J., Borevitz, J.O. (2012) Natural genetic variation for growth and development revealed by high-throughput phenotyping in *Arabidopsis thaliana*. *G3*, 2: 29–34.
- Zhou, R., Damerow, L., Sun, Y., Blanke, M.M. (2012) Using colour features of cv. ‘Gala’ apple fruits in an orchard in image processing to predict yield. *Precision Agriculture*, 13: 568-580.