

**GENÓTIPO HERMAFRODITA EM PROGÊNIE DIOICA DE
MAMOEIRO: INVESTIGAÇÃO DA ORIGEM E DO POTENCIAL
AGRONÔMICO**

ADRIANA AZEVEDO VIMERCATI PIROVANI

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

**CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
FEVEREIRO – 2018**

**GENÓTIPO HERMAFRODITA EM PROGÊNIE DIOICA DE
MAMOEIRO: INVESTIGAÇÃO DA ORIGEM E DO POTENCIAL
AGRÔNÔMICO**

ADRIANA AZEVEDO VIMERCATI PIROVANI

“Dissertação 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 mestre em Genética e Melhoramento de Plantas”

Orientadora: Prof^a. Helaine Christine Cancela Ramos

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
FEVEREIRO - 2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCH / UENF

041/2018

P672 Pirovani, Adriana Azevedo Vimercati.

Genótipo hermafrodita em progênie dioica de mamoeiro: investigação da origem e do potencial agrônômico / Adriana Azevedo Vimercati Pirovani. – Campos dos Goytacazes, RJ, 2018.

84 f. : il.

Bibliografia: f. 61 – 72.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2018.

Orientadora: Helaine Christine Cancela Ramos.

1. *Carica papaya* L. 2. Marcador Molecular. 3. Reversão Sexual. 4. Mancha-de-phoma. 5. Pinta-preta. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD – 634.651

GENÓTIPO HERMAFRODITA EM PROGÊNIE DIOICA DE
MAMOEIRO: INVESTIGAÇÃO DA ORIGEM E DO POTENCIAL
AGRONÔMICO

ADRIANA AZEVEDO VIMERCATI PIROVANI

“Dissertação 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 mestre em Genética e Melhoramento de Plantas”.

Aprovada em 20 de fevereiro de 2018.

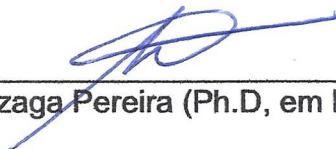
Comissão Examinadora:



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



Prof. Marcelo Vivas (D.Sc, Genética e Melhoramento de Plantas) – UENF



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



Profª. Helaine Christine Cancela Ramos (D.Sc, Genética e Melhoramento de Plantas) – UENF
(Orientadora)

Aos meus pais, Mônica e Sebastião, pelos ensinamentos ao longo destes anos; aos meus irmãos, Tatiane e Elivelton; às minhas tias, Maria Aparecida e Maria da Penha, por todo apoio e carinho; ao meu grande amor, pela compreensão e apoio durante toda essa jornada.

Dedico esta conquista

AGRADECIMENTOS

A Deus, por permitir que eu chegasse até aqui.

À minha família (minha mãe, Mônica e meu pai, Sebastião, meus irmãos Tatiane e Elivelton, minha sobrinha Thaís, tios, primos e madrinhas) por acreditarem e torcerem sempre pelo meu sucesso;

Ao meu esposo Eder, pelo apoio, compreensão e companheirismo;

À minha orientadora, prof^a Helaine C.C. Ramos, pelos ensinamentos, pela disponibilidade e atenção durante a realização deste trabalho;

Aos professores do LMGV, em especial, aos meus conselheiros professores, Messias Gonzaga Pereira e Marcelo Vivas, pelas valiosas contribuições;

Às técnicas do LMGV, Vitória e Marcela, pela colaboração nos trabalhos realizados no laboratório e pela amizade;

Ao secretário, Daniel, pela atenção, dedicação e por estar sempre disponível em ajudar;

À Caliman Agrícola S/A, pelo suporte financeiro e pela infra-estrutura para a realização deste trabalho;

À UENF, pela oportunidade de realização do mestrado;

À CAPES e à FAPERJ, pela concessão da bolsa;

À Tathianne Pastana, pelo acompanhamento nas avaliações do experimento e ensinamentos compartilhados;

A Renato Santa Catarina e Júlio C. F. Vettorazzi, pela valiosa ajuda na realização deste trabalho;

A todos que de alguma forma ajudaram na condução do experimento;
À amiga-irmã Raiane M. Santos, pela amizade, carinho e por me ajudar a seguir em frente, superando os obstáculos do dia-a-dia;
À Lais Chierici pela companhia, amizade e ajuda durante o mestrado;
Ao amigo Pedro Diniz, pela contribuição no meu crescimento profissional, pelos ensinamentos, paciência, amizade e companhia nas idas e vindas das viagens;
À Thábata, Dieimes, Daniel, Graziela, Rafaela, Nádia, Alinne, Fernanda, Diego Marmolejo, Jocarla e Mariane Pereira, pela convivência durante este período de mestrado;
A todos os amigos que estão próximos ou distantes e a todos que, de alguma forma, deram a sua contribuição para que este trabalho fosse realizado.

O meu muito obrigada!!!

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
3. CAPÍTULOS.....	5
3.1 USO DE FERRAMENTAS MOLECULARES NA ANÁLISE DE REVERSÃO SEXUAL EM MAMOEIRO	5
3.1.1 INTRODUÇÃO	5
3.1.2 REVISÃO	8
3.1.2.1 Importância nutricional e econômica do mamoeiro	8
3.1.2.2 Programa de melhoramento do mamoeiro da UENF/Caliman	9
3.1.2.3 Determinação do sexo em mamoeiro	10
3.1.2.4 Marcadores SSR no melhoramento do mamoeiro.....	11
3.1.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1.3.1 Material vegetal e extração de DNA genômico.....	13
3.1.3.2 Amplificação de iniciadores microssatélites e marcadores locos específicos.....	15
3.1.3.3 Análise estatística.....	20
3.1.4 RESULTADOS.....	20
3.1.5 DISCUSSÃO	25
3.1.6 CONCLUSÕES	28
3.2 AVALIAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E DE RESISTÊNCIA À PINTA-PRETA E MANCHA-DE-PHOMA EM GENÓTIPO HERMAFRODITA M3	29
3.2.1 INTRODUÇÃO	29

3.2.2 REVISÃO	31
3.2.2.1 Ocorrência de doenças na cultura do mamoeiro	31
3.2.2.2 Pinta-preta [<i>Asperisporium caricae</i> (Speg.) Maubl.]	32
3.2.2.3 Mancha-de-phoma [<i>Stagonosporopsis caricae</i> (Sydow & P. Sydow)] ...	35
3.2.2.4 Melhoramento do mamoeiro voltado à resistência à pinta-preta e mancha-de-phoma	37
3. 2. 3 MATERIAL E MÉTODOS	39
3. 2.3.1 Instalação e localização do experimento	39
3. 2.3.2 Características morfoagronômicas	39
3. 2.3.3 Avaliações relativas à ocorrência de doenças	41
3. 2.3.4 Análise Estatística das características morfoagronômicas e de resistência	41
3. 2.3.4.1 Análise de Variância	41
3. 2.3.4.2 Análise de Variância das características morfoagrômicas	41
3. 2.3.4.3 Análise de Variância das características de resistência.....	42
3.2.3.5 Estimação dos parâmetros genéticos e experimentais.....	42
3.2.3.6 Estimação da diversidade genética	43
3. 2.4 RESULTADOS	43
3. 2.4.1 Variáveis morfoagronômicas	43
3. 2.4.1.2 Análise de Variância e parâmetros genéticos	43
3. 2.4.1.3 Comparações de médias	47
3. 2.4.2 Variáveis de incidência e severidade de pinta-preta em frutos e folhas e incidência e severidade de mancha-de-phoma em folhas.....	48
3. 2.4.2.1 Análise de Variância e dos parâmetros genéticos e experimentais	48
3. 2.4.2.2 Comparações de médias	50
3. 2.4.3 Diversidade genética	52
3. 2.5 DISCUSSÃO	54
3. 2.6 CONCLUSÕES	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61

RESUMO

PIROVANI, Adriana Azevedo Vimercati, M. Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Fevereiro de 2018. Genótipo hermafrodita em progênie dioica de mamoeiro: investigação da origem e do potencial agrônômico. Orientadora: Profa. Helaine Christine Cancela Ramos. Conselheiros: Profs. Messias Gonzaga Pereira e Marcelo Vivas.

A espécie *Carica papaya* L. é trioica, apresentando plantas femininas (XX), masculinas (XY) e hermafroditas (XY^h). Embora em baixa frequência, pode ocorrer naturalmente a reversão sexual das plantas XY para XY^h, e vice-versa. A cultura se sustenta em uma estreita base genética, sendo de extrema importância desenvolver genótipos agronomicamente superiores e resistentes às doenças, atendendo as exigências dos consumidores e produtores. O objetivo deste trabalho foi investigar a origem de uma planta hermafrodita M3 identificada em progênie dioica, elucidando a ocorrência de reversão sexual ou contaminação, via análise com marcadores moleculares e avaliar os atributos morfoagronômicos e de resistência à pinta-preta e mancha-de-phoma do genótipo hermafrodita M3. Na primeira etapa, o material vegetal foi constituído por 15 genótipos pertencentes ao banco ativo de germoplasma de mamoeiro UENF/Caliman, sendo: sete genótipos femininos da progênie dioica M3, um hermafrodita M3 e sete testemunhas (Cariflora, Cimarron, Sekati, Maradol Origem México, Maradol GL, Criola de Costa Rica e 'Golden'). Tais genótipos foram analisados via marcadores moleculares microssatélites da região HSY (determinação do hermafroditismo em mamoeiro), e das regiões autossômicas. Posteriormente foi incluído um genótipo masculino

como testemunha, sendo analisados 16 genótipos via reações em multiplex para os marcadores: PMSM1 (amplifica em plantas masculinas e em plantas com reversão sexual de masculina (XY) para hermafrodita (XY^h)); W11 (macho/hermafrodita) e o marcador 71E (amplifica nos três tipos sexuais). Os dados obtidos a partir da amplificação dos locos microssatélites foram convertidos em uma matriz numérica, para a obtenção da matriz de dissimilaridade genética pelo índice ponderado utilizada para agrupar os indivíduos através do método hierárquico UPGMA e para projeção da distância no plano bidimensional. Estimou-se para cada região acessada a heterozigose e o coeficiente de endogamia. Para avaliação das características morfoagronômicas, da incidência e severidade da pinta-preta e da mancha-de-phoma, foram avaliados seis genótipos (hermafrodita M3; progênie dioica M3; 'Golden'; Maradol; 'Calimosa' e Sunrise Solo 72/12), em um delineamento experimental em blocos casualizados com dez repetições e duas plantas por parcela, aplicando análises de variância e testes de médias para essas características. Quanto aos parâmetros descritivos, o hermafrodita M3 assemelhou-se às testemunhas hermafroditas na região HSY e aos dioicos na região autossômica. Na análise de agrupamento, o hermafrodita M3 ficou próximo dos dioicos quanto à região HSY e dos hermafroditas para região autossômica. A análise de projeção de distância no plano bidimensional corroborou com o agrupamento observado para os 30 locos. Os dados gerados pelos locos microssatélites e do loco macho-específico indicaram que não ocorreu uma reversão sexual natural, evidenciando-se uma provável contaminação. Em relação às características morfoagronômicas, o genótipo hermafrodita M3 apresentou bons atributos, tanto para produção quanto para a qualidade de frutos. Quanto à resistência à pinta-preta e mancha-de-phoma, considerando as três épocas avaliadas, o genótipo hermafrodita M3 apresentou desempenho semelhante à testemunha utilizada como parâmetro de resistência (Maradol), contudo foi constatado efeito de época, evidenciando a necessidade de estudos em mais épocas, uma vez que a obtenção de um genótipo hermafrodita resistente possibilitará a utilização em novas hibridações e a obtenção de híbridos estáveis.

ABSTRACT

PIROVANI, Adriana Azevedo Vimercati, M. Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, February 2018. Hermaphrodite Genotype in Dioecious Progeny in Papaya Tree: Investigation of the Origin and Agronomic Potential. Advisor: Professor Helaine Christine Cancela Ramos. Committee Members: Professor Messias Gonzaga Pereira and Professor Marcelo Vivas.

Carica papaya L. is a trioecious species, presenting female (XX), male (XY), and hermaphrodite (XYh) plants. Although in low incidence, a sexual reversion from XY plants to XYh plants, and conversely, can occur naturally. The culture has a narrow genetic base, and to develop agronomically superior genotypes, resistant to diseases, and that meets the demands of customers and producers is of high importance. This work aimed at investigating the origin of a hermaphrodite plant M3 identified in dioecious progeny, clarifying the occurrence of sexual reversion or contamination, by means of analysis using molecular markers, and evaluating the morphoagronomic and resistance attributes to black-spot and to Phoma leaf blight of the hermaphrodite M3 genotype. In the first stage, the plant material was composed of 15 genotypes from the active bank of papaya tree germplasm UENF/Caliman, being seven female genotypes of the dioecious progeny M3, a hermaphrodite M3, and seven testimonies (Cariflora, Cimarron, Sekati, Maradol Origin Mexico, Maradol GL, Criola de Costa Rica, and 'Golden'). Those genotypes were analyzed by microsatellite molecular markers in the HSY region (determination of the hermaphroditism in papaya tree) and in the autosome regions. Subsequently, a male genotype was included as a testimony, and then analyzed 16 genotypes by

means of reactions in multiplex for the markers PMSM1 (it amplifies in male plants and in plants with sexual reversion from male (XY) to hermaphrodite (XYh)); W11 (male/hermaphrodite); and the marker 71E (it amplifies in the three sexual types). Data from the amplification of microsatellite loci were converted into a numerical matrix to obtain the genetic dissimilarity matrix by the weighted index used to cluster the individuals by means of the UPGMA hierarchical method and to project the distance in the bi-dimensional plane. The heterozygosity and the coefficient of endogamy were estimated for each region accessed. For the evaluation of the morphoagronomic traits, incidence and severity of the black-spot and the Phoma leaf blight, six genotypes (hermaphrodite M3; dioecious progeny M3; 'Golden'; Maradol; 'Calimosa'; and Sunrise Soil 72/12) were assessed in an experimental design in randomized blocks with ten replications and two plants per plot applying analyzes of variance and mean tests for those traits. Regarding the descriptive parameters, the hermaphrodite M3 was similar to the hermaphrodite testimonies in the HSY region and to the dioecious in the autosome region. In the analysis of cluster, the hermaphrodite M3 was near the dioecious, concerning the HSY region, and of the hermaphrodites, regarding the autosome region. The analysis of projection of distance in the bi-dimensional plane validates the clustering observed for the 30 loci. The data generated by the microsatellites loci and the male-specific locus indicated that a natural sexual reversion did not occurred, demonstrating a possible contamination. With regard to the morphoagronomic traits, the hermaphrodite M3 genotype showed good attributes both for production, quality of fruits, and resistance to black-spot and to Phoma leaf blight. Considering the three periods evaluated, the hermaphrodite M3 genotype presented a performance similar to the testimony used as a resistance parameter (Maradol). However, a period effect was identified proving the need for studies approaching more periods, once the acquisition of a resistant hermaphrodite genotype will enable the use in new hybridizations and the obtaining of stable hybrids.

1. INTRODUÇÃO

Dentre as fruteiras mais comuns nos países da América Tropical, encontra-se o mamoeiro (*Carica papaya* L.) (Oliveira et al., 1994). As cultivares mais exploradas no Brasil são classificadas em dois grupos, conforme o tipo de fruto: Solo e Formosa (Dantas, 2000a). A cultivar Golden, uma mutação do 'Improved Sunrise Solo Line 72/12', encontra-se bastante difundida nas regiões Norte do Espírito Santo e Sul da Bahia (Costa e Pacova, 2003), o híbrido UENF/Caliman01 também se destaca na composição de plantios comerciais no país (Ramos, 2010). Embora esses genótipos sejam amplamente difundidos e explorados em plantios comerciais, nenhuma cultivar registrada é imune a doenças, isso acarreta grandes perdas na produtividade e qualidade de frutos.

O melhoramento genético pode contribuir para o aumento da variabilidade genética dos cultivos de mamoeiro por meio do desenvolvimento de novos genótipos, com resistência às principais pragas, com atributos agrônômicos e de qualidade de frutos que atendam às exigências do consumidor (Oliveira et al., 2010a).

Nesse sentido, progênies de meios-irmãos de mamoeiros oriundas de genótipos crioulos procedentes do sul do Estado do Espírito Santo, foram avaliadas quanto à resistência à pinta-preta, e conferiram a ocorrência de variabilidade genética (Vivas et al., 2012b, Vivas et al., 2013b). O mesmo material foi utilizado para avaliação do potencial genético de contribuição na resistência à mancha-de-phoma e apresentaram-se como promissores, pois mostraram valores adequados,

tanto para incidência quanto para severidade de mancha-de-phoma em folhas (Vivas et al., 2014). Na progênie estudada foi possível identificar materiais resistentes, entretanto, esses materiais são dioicos, inviabilizando a autopolinização e a geração de linhagens, tendo em vista a natureza do sistema reprodutivo, onde ocorre, obrigatoriamente, a alogamia. Como consequência, as plantas dioicas possuem um alto nível de heterozigose, o que resulta em híbridos bastante heterogêneos (Silva et al., 2007a).

Dessa forma, a utilização de materiais dioicos pode não ser a melhor opção devido às questões relatadas. Seria necessária a conversão do material dioico para hermafrodita para posterior introdução no programa de melhoramento, semelhante ao trabalho de Silva et al. (2007a), que conduziram um programa de melhoramento para a conversão sexual do genótipo 'Cariflora', de feminino para hermafrodita via retrocruzamento, visando inicialmente o desenvolvimento de linhagens endogâmicas e depois de híbridos superiores.

A conversão sexual natural em genótipos dioicos já foi objeto de estudo no programa de melhoramento do mamoeiro da UENF (Ramos et al., 2011b). Após a identificação de um genótipo hermafrodita entre acessos pertencentes ao genótipo dioico 'Cariflora' (no qual até então só se conhecia materiais genéticos do sexo masculino e feminino), os autores confirmaram via análise molecular a existência de um representante hermafrodita para o genótipo 'Cariflora', sugerindo que este genótipo pode ter sido originado a partir de algum tipo de modificação genética, como por exemplo, por uma mutação na região cromossômica que controla a expressão do sexo no mamoeiro.

A ocorrência de uma conversão sexual natural disponibiliza de imediato ao melhorista, um material que levaria muitas gerações para ser obtido por meio de um programa de melhoramento. Sendo assim, a conversão sexual natural de um genótipo masculino para hermafrodita, que apresente resistência a doenças e bons atributos morfoagronômicos, permitirá a autofecundação do material e a obtenção de linhagens e híbridos estáveis, o que será um ganho para o programa de melhoramento do mamoeiro da UENF.

Dessa forma, é um desafio para os melhoristas disponibilizar novos genótipos agronomicamente superiores que atendam as exigências dos consumidores e produtores (Barros et al., 2017). Outro desafio a ser superado pela cultura do mamoeiro é a necessidade de genótipos comerciais resistentes a

doenças. Nesse sentido, a identificação desses genótipos possibilitaria a utilização em novas hibridações, viabilizando o cultivo do mamoeiro em maior amplitude do país.

Uma das formas de se ampliar a base genética para fins de melhoramento de plantas é a incorporação de genótipos crioulos ou “landraces” (Vivas et al., 2012b), uma vez que genótipos crioulos são importantes fontes de genes de adaptação, rusticidade e resistência de plantas a doenças bióticas e a estresses abióticos (Vivas et al., 2014).

2. OBJETIVOS

Investigar a origem de uma planta hermafrodita M3 identificada em progênie dioica, elucidando a ocorrência de reversão sexual ou contaminação, via análise com marcadores moleculares (SSR e locos específicos) e;

Avaliar os atributos morfoagronômicos e de resistência à mancha-de-phoma e pinta-preta do genótipo hermafrodita M3.

3. CAPÍTULOS

3.1 USO DE FERRAMENTAS MOLECULARES NA ANÁLISE DE REVERSÃO SEXUAL EM MAMOEIRO

3.1.1 INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*C. papaya*) é uma espécie trioica, ou seja, apresenta três formas sexuais: feminina, masculina e hermafrodita (Storey, 1953). A determinação do sexo no mamoeiro é controlada por um par de cromossomos sexuais recentemente evoluídos com genótipo XX nas plantas femininas, XY nas masculinas e XY^h nas plantas hermafroditas (Liu et al., 2004).

Em busca de compreender as origens do hermafroditismo e a evolução dos cromossomos sexuais, foram sequenciadas a região hermafrodita-específica (HSY) do cromossomo Y^h e sua contraparte do cromossomo X (Wang et al., 2012), bem como a região macho específica (MSY) do cromossomo Y, sugerindo que as plantas hermafroditas (XY^h) são, provavelmente, resultado da domesticação de uma população dioica silvestre da região do Pacífico Norte da Costa Rica (VanBuren et al., 2015).

As regiões HSY e MSY compartilham 99,6% de identidade (VanBuren et al., 2015), sendo a região distinta (0,4%) responsável pelas características que

distinguem uma planta masculina da hermafrodita, ou seja, regiões que possuem genes responsáveis pelo aborto de carpelo e pelo desenvolvimento de pedúnculos longos na inflorescência masculina (Liao et al., 2017).

Identificar o sexo do mamoeiro na fase de plântula é extremamente importante, agilizando o tempo na escala produtiva e permitindo a economia de recursos financeiros e naturais (água, luz e nutrientes). Haja vista que a identificação sexual e sexagem são realizadas somente após a floração, aproximadamente aos 90 dias após o transplântio. Sendo necessário o plantio de três a quatro mudas por cova na expectativa de se alcançar maior número de plantas hermafroditas e, conseqüentemente, maior produtividade por área plantada.

Estudos voltados à determinação sexual precoce são de extrema importância para os programas de melhoramento do mamoeiro, pois além da demanda por genótipos hermafroditas para composição das lavouras comerciais (tendo em vista a obtenção de 66,67% de plantas hermafroditas a partir de linhagens e de 50% a partir de uma cultivar híbrida) e da preferência do consumidor por frutos piriforme, os genótipos hermafroditas podem ser utilizados em autofecundações para o desenvolvimento de linhagens e na obtenção de híbridos estáveis. Pois, em genótipos dioicos, a autopolinização ou a geração de linhagens não são possíveis, além disso, o número de locos em heterozigose é alto e os híbridos resultantes são bastante heterogêneos (Silva et al., 2007a). No entanto, os genótipos de populações dioicas podem ser portadores de genes de interesse para o melhoramento, como por exemplo, genes que conferem adaptação, rusticidade e resistência a estresse biótico e abiótico. Sendo assim, a reversão sexual de um genótipo dioico para hermafrodita que apresente resistência à pinta-preta e mancha-de-phoma e, ainda, possua bons atributos morfoagronômicos, traz grande vantagem e celeridade para os programas de melhoramento.

A ocorrência da reversão sexual floral é comum na cultura do mamoeiro onde se observa plantas masculinas com flores hermafroditas e vice-versa, enquanto as flores femininas são consideradas estáveis (Storey, 1958). Essa reversão floral conhecida como esterilidade de verão (Damasceno Júnior et al., 2008) é atribuída a fatores genéticos e ambientais (Hofmeyer 1939, Awada 1958, Arkle Junior e Nakasone 1984, Silva et al., 2007b, Damasceno Júnior et al., 2008), além de

alterações epigenéticas (Negrutiu et al., 2001; Vyskot e Hobza, 2004; Aryal e Ming 2014, Liao et al., 2017).

Embora, em uma frequência muito baixa, a reversão sexual natural de uma planta masculina para hermafrodita ocorre espontaneamente (Liao et al., 2017) como ocorreu para o genótipo dioico 'Cariflora' (Ramos et al., 2011b). A ocorrência de uma reversão sexual natural disponibiliza de imediato aos melhoristas, um material que levaria muitas gerações para ser obtido por meio de um programa de melhoramento via introgressão do alelo responsável pelo hermafroditismo (Silva et al., 2007a, Ramos et al., 2014).

Para auxiliar na identificação sexual precoce das plantas de mamoeiro, marcadores específicos para determinação do sexo foram desenvolvidos e utilizados alcançando resultados positivos sejam eles do tipo SCAR (*Sequence Characterized Amplified Region*) (Parasnis et al., 2000; Deputy et al., 2002; Urasaki et al., 2002; Chaves-Bedoya e Nuñez, 2007), RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) (Sondur et al., 1996; Deputy et al., 2002; Lemos et al., 2002; Urasaki et al., 2002), SSR (*Simple Sequence Repeats*) (Parasnis et al., 1999; Santos et al., 2003; Eustice et al., 2008; Na et al., 2012) e AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) (Ma et al., 2004).

Foram desenvolvidos por Liao et al. (2017) dois marcadores locos específicos (PMSM1 e PMSM2) com base na sequência de 8.396 pb de um retrotransposon específico da região MSY. Estes dois pares de *primers* amplificam fragmentos apenas em plantas masculinas e hermafroditas oriundas de reversão sexual (XY para XY^h), não havendo amplificação nas plantas femininas e hermafroditas. Para a validação destes *primers* foram utilizadas 11 variedades ginodioicas e quatro dioicas, verificando-se uma eficiente distinção de cultivares ginodioicas e dioicas, além de clara identificação de plantas com reversão sexual masculino-hermafrodita (Liao, et al., 2017). Como controle, os autores utilizaram o marcador específico macho/hermafrodita W11, com 792pb, desenvolvido por Deputy et al. (2002) e o marcador 71E (Liao, et al., 2017), que amplifica um fragmento de 1000pb em todos os tipos sexuais.

Nesse contexto, foram utilizados iniciadores SSR da região HSY (Na et al., 2012), SSR cobrindo os 12 grupos de ligação do mamoeiro (baseado no trabalho de Chen et al., 2007) e marcadores locos específicos, objetivando investigar a

origem de uma planta hermafrodita M3, identificada em progênie dioica M3, elucidando a ocorrência de reversão sexual ou contaminação.

3.1.2 REVISÃO

3.1.2.1 Importância nutricional e econômica do mamoeiro

O mamoeiro (*C. papaya*) está entre as fruteiras mais cultivadas e consumidas nas regiões tropicais e subtropicais (Serrano e Caetano, 2010). O cultivo desta fruteira busca abastecer o mercado nacional e internacional, devido ao excelente valor digestivo e nutritivo de seus frutos (ricos em vitamina C) (Dantas, 2000b).

Seus frutos são consumidos basicamente na forma *in natura* (Souza et al., 2005), além de fornecer a papaína, enzima proteolítica empregada para os mais variados usos nas indústrias têxtil, farmacêutica, alimentícia e cosmética (Oliveira et al., 1994).

A produção mundial de mamão está reunida, principalmente, em cinco países (Indonésia, Índia, Brasil, Nigéria e México), que se alternam nas primeiras posições. O Brasil é o segundo maior produtor e exportador de mamão, com uma produção anual de aproximadamente 1,5 milhão de toneladas. Possui uma área de 32 mil hectares e exporta a fruta para países da Europa e, principalmente, dos Estados Unidos. Ficando atrás apenas da Índia com uma produção de 5 milhões de toneladas (Araújo, 2017).

No Brasil, o cultivo do mamoeiro acontece em todas as regiões (Galeano e Martins, 2015), destacando-se como principais produtores os Estados da Bahia (753,417 toneladas), Espírito Santo (251,365 toneladas), Ceará (110,520 toneladas), Rio Grande do Norte (94,740 toneladas) e Minas Gerais (61,306 toneladas) (IBGE, 2016).

Em 2014, foram registradas 88 unidades produtoras na Bahia, 90 no Ceará, 76 no Rio Grande do Norte, 18 no Espírito Santo e 58 em Minas Gerais. Sendo a maior produção da fruteira registrada para Prado (84.420 toneladas) e Porto Seguro (81804 toneladas); Pinheiros (90.000 toneladas) e Linhares (75. 000 toneladas);

Quixeré (14.647 toneladas) e Varjota (14.300 toneladas); Baraúna (34.999 toneladas) e Touros (12.000 toneladas); Jaíba (35.000 toneladas) e Matias Cardoso (30 000 toneladas), municípios pertencentes à Bahia, Espírito Santo, Ceará, Rio Grande do Norte e Minas Gerais, respectivamente (IBGE, 2014).

Do ponto de vista social, o mamoeiro é de grande relevância, contribuindo para geração de emprego e redução do êxodo rural, pois a cultura necessita de tratos culturais durante todo o ano (Dantas et al., 1999).

3.1.2.2 Programa de melhoramento do mamoeiro da UENF/Caliman

O mamoeiro é uma cultura de enorme importância econômica, em expansão tanto no mercado interno quanto externo, despertando o interesse dos programas de melhoramento. Segundo Pereira et al. (2015), apesar dos inúmeros trabalhos realizados, muitos estudos ainda são necessários, a fim de fortalecer os programas de melhoramento genético do mamoeiro, de modo que contribuam para ampliação da base genética atual, gere variedades com resistência às principais doenças, além de apresentarem características agrônomicas desejáveis, visando satisfazer as exigências do mercado interno e externo.

Em virtude disso, a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) estabeleceu em 1996, em parceria com a empresa Caliman S/A, um programa de melhoramento genético do mamoeiro, desenvolvendo vários estudos, tais como: avaliação da capacidade combinatória de oito genitores do grupo 'Solo' em cruzamento dialélico parcial com oito genótipos do grupo 'Formosa', voltados à identificação de híbridos promissores (Marin et al., 2006), conversão de material dioico para hermafrodita (Silva et al., 2007a), estimativa da capacidade específica de combinação e efeito heterótico de híbridos de mamoeiro, por meio de *top cross* entre dez linhagens superiores provenientes de retrocruzamento e quatro testadores de base estreita (Santa-Catarina, 2016), entre outros, visando o desenvolvimento de genótipos superiores, capazes de contribuir com o agronegócio do mamão no Brasil (Pereira et al., 2015).

Resultados satisfatórios foram alcançados pelo programa de melhoramento do mamoeiro da UENF/Caliman, destacando-se o registro de nove híbridos de mamoeiro ('UENF/Caliman01', 'UENF/Caliman02', 'UENF/Caliman03', 'UENF/Caliman04', 'UENF/Caliman05', 'UENF/Caliman06', 'UENF/Caliman07',

'UENF/Caliman08' e 'UENF/Caliman09') junto ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), em 2002 (BRASIL, 2018). Entre eles encontra-se o primeiro híbrido desenvolvido no país, o 'UENF/Caliman01', conhecido comercialmente como 'Calimosa', recomendado aos agricultores em 2003 e vem sendo cultivado nas diferentes regiões produtoras do Brasil, nos estados do Rio Grande do Norte, Bahia e Espírito Santo (Pereira et al., 2015). A partir de trabalhos de Luz et al. (2015), foram registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, quatro novos híbridos 'UC-10', 'UC-12', 'UC-14' e 'UC-16'. Além destes, outros oito híbridos ('UC-20', 'UC-21', 'UC-22', 'UC-23', 'UC-24', 'UC-25', 'UC-27', 'UC-28') foram desenvolvidos e registrados no ministério da agricultura (BRASIL, 2018).

De acordo com Pereira et al., (2015), além do desenvolvimento de novas cultivares híbridas o programa contribui na formação de profissionais (Agrônomos, Biólogos, Mestres e Doutores) e na geração e divulgação do conhecimento científico na forma de artigos publicados. Ainda, conforme esses autores, o programa de melhoramento do mamoeiro da UENF/Caliman sustenta-se em alguns pilares básicos destacando: o melhoramento clássico, as ferramentas de citogenética, a genética molecular, a fisiologia pós-colheita, a bioinformática e a resistência a doenças (Pereira et al., 2015).

3.1.2.3 Determinação do sexo em mamoeiro

Na literatura, referente à herança do sexo em mamoeiro, destacam-se os estudos de Hofmeyr (1938) e Storey (1938) que, trabalhando independentemente, estabeleceram hipóteses semelhantes postulando que o sexo em *C. papaya* era determinado por um gene com três alelos. Hofmeyr (1938) atribuiu os símbolos m, M₁ e M₂ para os alelos desse gene, sendo as plantas masculinas e hermafroditas heterozigotas, apresentando, respectivamente, os genótipos M₁m e M₂m, enquanto as plantas femininas seriam homozigotas (mm). As combinações dominantes destes genótipos M₁M₁ e M₂M₂ são letais (Storey, 1953).

Anos depois, Hofmeyr (1967) propôs a hipótese do balanço gênico, para a determinação sexual em *C. papaya*, sugerindo que uma maior concentração de genes afetando a feminilidade está nos cromossomos sexuais, enquanto a maior concentração dos genes afetando a masculinidade está nos cromossomos

autossômicos, concluindo que a interação entre esses fatores determina o sexo da planta.

Porém, a teoria mais recente estabelece que o controle do sexo no mamoeiro esteja relacionado aos cromossomos sexuais X e Y evoluídos recentemente, onde plantas masculinas e hermafroditas são controladas por dois cromossomos Y ligeiramente diferentes, apresentando os genótipos XY e XY^h, respectivamente, e genótipo XX para plantas femininas (Liu et al., 2004).

O sistema de determinação do sexo no mamão é particularmente intrigante, não só por possuir três tipos florais (masculina, feminina e hermafrodita) dentro da espécie, mas, também, porque mostra reversão sexual frequentemente causada por fatores ambientais tais como: mudanças bruscas de temperatura entre o dia e a noite, radiação solar, comprimento do dia, baixa umidade, baixa temperatura durante a noite e por fatores genéticos, principalmente a mutação (Hofmeyr, 1938; Tooke et al., 2005). Vale ressaltar que as diversas variações nos tipos de sexo são encontradas em plantas hermafroditas e masculinas, enquanto as plantas femininas são estáveis, ou seja, não apresentam reversão sexual (Zaidan, 2002).

Por apresentar ciclo de vida relativamente curto, genoma pequeno e recursos genéticos e genômicos disponíveis o mamão se tornou um excelente sistema modelo para estudar a determinação do sexo (Aryal e Ming, 2014), possibilitando o desenvolvimento de muitos estudos. Como exemplo, Aryal et al. (2014) utilizaram sequências de RNAs de alto rendimento para identificar miRNAs em flores masculinas, femininas e hermafroditas, indicando 14 miRNAs com função potencial na determinação do sexo do mamão por se expressarem diferencialmente entre os três sexos.

3.1.2.4 Marcadores SSR no melhoramento do mamoeiro

Os marcadores moleculares microssatélites, também denominados de repetições de sequências simples (SSR), compreendem uma classe de DNA repetitivo composto de pequenas sequências de 1 a 4 nucleotídeos repetidos adjacentes que se encontram dispersos no genoma (Schlötterer e Pemberton, 1998).

Entre os primeiros trabalhos com desenvolvimento de sequências de *primers* microssatélites desenhados especificamente para a espécie *C. papaya*, estão

Santos et al. (2003), Pérez et al. (2006), Ramos (2007) e Eustice et al. (2008). Santos et al. (2003) desenharam 32 pares de *primers* para diferenciação da forma sexual em plantas femininas e hermafroditas de cultivares do mamoeiro. Pérez et al. (2006) disponibilizaram 45 sequências de clones que possibilitaram o desenho de 45 pares de *primers* por Ramos (2007). Já Eustice et al. (2008) desenvolveram 938 marcadores microssatélite.

Os marcadores descritos por Eustice et al. (2008) foram utilizados para construção de um mapa genético de alta densidade (Chen et al., 2007), onde um total de 707 marcadores microssatélites foram mapeados em doze grupos de ligação (nove grupos principais e três grupos menores).

Vidal et al. (2014) desenvolveram e validaram um atlas abrangente no genoma do mamoeiro, separando os marcadores gênicos (e as regiões de intróns e éxons) e genômicos e a notação da provável função desses marcadores microssatélites que, certamente, auxiliará na eficiência da seleção assistida por marcadores em mamoeiros e estudos genéticos populacionais.

A disponibilidade de informações genômicas, facilita a identificação e utilização de marcadores gênicos e marcadores mais específicos, como os de determinação de sexo, por exemplo, desenvolvidos por Na et al. (2012) para construção de mapas físicos das regiões cromossômicas HSY e X, essencial para sequenciamento destas regiões, a fim de descobrir os eventos iniciais da evolução de cromossomos sexuais.

Em meio as principais aplicações dos marcadores moleculares microssatélites na cultura do mamoeiro tem-se: monitoramento da variabilidade genética durante os ciclos de seleção por retrocruzamentos, diminuindo os ciclos de seleção (Ramos et al., 2011a); avaliação da diversidade genética (Matos et al., 2013); análise do polimorfismo em genótipos de mamoeiro (Souza et al., 2014); caracterização genética; monitoramento do nível de endogamia nos genótipos e estimativa da proporção genômica do progenitor recorrente na população avaliada (Ramos et al., 2014). Assim, os marcadores SSRs têm ganhado espaço nos programas de melhoramento, auxiliando os métodos clássicos de melhoramento genético em diversos aspectos.

3.1.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1.3.1 Material vegetal e extração de DNA genômico

Na primeira etapa do trabalho, foram submetidos à análise molecular 15 genótipos (Tabela 1), sendo os sete genótipos femininos com denominação de M3 resultantes da progênie dioica 'STA-04' resistente à pinta-preta (Vivas et al., 2012b; Vivas et al., 2013b), e mancha-de-phoma (Vivas et al., 2014). O genótipo hermafrodita M3 (figura 1) foi identificado nesta progênie.

Tabela 1. Genótipos de mamoeiro utilizados para análise molecular via marcadores microsatélites e loco-específicos.

Genótipos	Sexo	Tipo de população de origem
M_3 – 5	Feminino	Dioica
M_3 – 7	Feminino	Dioica
M_3 – 8	Feminino	Dioica
M_3 – 4	Feminino	Dioica
Hermafrodita M3	Hermafrodita	Dioica
M_3 – 3	Feminino	Dioica
M_3 – 2	Feminino	Dioica
M_3 – 9	Feminino	Dioica
Cariflora	Feminino	Dioica
Cimarron	Feminino	Dioica
Maradol_mx	Hermafrodita	Ginodioica
Sekati	Hermafrodita	Ginodioica
Maradol_GL	Hermafrodita	Ginodioica
Criola_CR	Feminino	Dioica
'Golden'	Hermafrodita	Ginodioica

Na segunda etapa do trabalho, foi incluído como testemunha um genótipo masculino da progênie dioica M3. Todos os genótipos são pertencentes ao banco ativo de germoplasma (BAG) de mamoeiro do programa de melhoramento UENF/Caliman, mantido na empresa Caliman Agrícola S/A, localizada no município de Linhares, estado do Espírito Santo, entre os paralelos 19° 06' -19° 18' de Latitude Sul e entre os meridianos 39° 45' -40° 19' Oeste.



Figura 1. Planta hermafrodita M3 avaliada via marcadores moleculares, pertencente ao BAG UENF/Caliman, mantido na empresa Caliman Agrícola S/A, Linhares – ES.

Para a extração do DNA genômico, as amostras de folhas jovens dos 16 genótipos foram coletadas no BAG, colocadas em envelopes de papel alumínio, identificadas, imersas e transportadas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultrafreezer a uma temperatura de -80°C . A extração do DNA foi realizada de acordo com o protocolo CTAB (Doyle e Doyle, 1987), com modificações sugeridas por Daher et al. (2002). Para avaliação da concentração e da qualidade de DNA, as amostras foram coradas com a mistura de *Blue Juice* e *Gel Red* na proporção de 1:1 e avaliadas em gel de agarose a 1%, utilizando o quantificador lambda (λ) em concentração de $100\text{ ng}/\mu\text{L}$. As imagens foram capturadas pelo sistema de fotodocumentação MiniBis Pro (*Bio Imaging Systems*). Em seguida, as amostras foram submetidas à quantificação pelo programa Gel quant, para estimar a quantidade de DNA obtido. Posteriormente, as amostras de trabalho foram padronizadas à concentração de $5\text{ ng}/\mu\text{L}$ e mantidas a -20°C .

3.1.3.2 Amplificação de iniciadores microssatélites e marcadores locos específicos

Inicialmente foi realizado um *Screening* com 66 *primers* (Tabela 2), selecionando 30 para as reações de amplificação por apresentarem polimorfismo, sendo 15 marcadores SSR da região HSY (cromossomo Y^h) e 15 marcadores SSR, cobrindo regiões autossômicas do genoma do mamoeiro, previamente relatado por Na et al. (2012) e Eustice et al. (2008), respectivamente. As reações foram realizadas em um volume final de 13 µL, contendo 1x de tampão Taq Buffer (NH₄)₂SO₄; 0,2 mM de dNTP; 1,9 mM de MgCl₂; 0,2 mM de *primer* (F+R); 10ng de DNA e 0,6 U de Taq DNA polimerase.

Na segunda etapa, as reações foram realizadas em multiplex, utilizando o marcador macho-específico PMSM1 que amplifica fragmentos de 585 pb em plantas masculinas e em plantas com reversão sexual de masculina (XY) para hermafrodita (XY^h) (Liao et al., 2017), o marcador W11 com 792pb (Deputy et al., 2002) que amplifica em plantas masculinas e hermafroditas, mas não em plantas femininas e o marcador 71E (Liao et al., 2017) utilizado como controle por amplificar nos três tipos sexuais (Tabela 3). As reações em multiplex foram realizadas em volume final de 13 µL, contendo 1x de tampão Taq Buffer (NH₄)₂SO₄; 0,2 mM de dNTP; 1,9 mM de MgCl₂; 0,2 mM de cada *primer* (F+R); 10ng de DNA e 0,6 U de Taq DNA polimerase.

As amplificações do DNA foram realizadas no termociclador Gradiente da marca *Applied Biosystems*, de acordo com o seguinte programa: um ciclo de 5 minutos a 94°C para a desnaturação inicial do DNA, seguido de 35 ciclos por 1 minuto a 94°C para desnaturação, 1 minuto com a temperatura (°C) ideal para o anelamento dos *primers* (específica para cada *primer* conforme o gradiente de temperatura) e 3 minutos a 72°C para a extensão dos *primers*. Posteriormente, um ciclo de 7 minutos a 72°C para a extensão final com uma redução a 4°C no final da amplificação. Após serem corados com a mistura de *Gel Red* e *Blue Juice* (1:1), os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose 4%, submetido a 0,30 Ampere. Posteriormente, as imagens foram capturadas pelo sistema de fotodocumentação MiniBis Pro (*Bio Imaging Systems*). Os locos polimórficos foram submetidos a análises estatísticas.

Tabela 2. Lista de *primers* utilizados na análise molecular dos 15 genótipos de mamoeiro, com respectivas sequências, número de alelos por loco (NA), referência, grupos de ligação (GL) e temperatura de anelamento (Ta)

Locos SSR	Sequência (5' → 3')	Sequência (3' → 5')	NA	Referência	GL	Ta (°C)
spctg177_258a	F: GTGACTGATGATCGGGGAC	R: CCCCATAAATTTTCAGCGAAT	2	Na et al., 2012	1	60
spctg177_39a	F: ATGTTGGGCGCCTTTCTTTT	R: ACCTGCCGTGGCTATTGAGA	2	Na et al., 2012	1	60
spctg177_445a	F: CCTACGAAGGACCAATTAAGCA	R: TCTTTGCAAGTGTTCATCA	2	Na et al., 2012	1	60
spctg177_495a	F: GCACGCCTTCTTGGAAA	R: CGTGCAGCATCGGCTATTTA	3	Na et al., 2012	1	60
spctg177_497a	F: GTGCATTCAAATTTTATTCGTGA	R: GTGTGGAGTGGATCAATTTGC	2	Na et al., 2012	1	60
BorderB_1288a	F: TGGTGAAAGAGCGAATGCTG	R: TCATCGAACCTGCCATAGCC	2	Na et al., 2012	1	60
BorderB_2001a	F: CCCATAACTCAAATTTTCACCCC	R: TGTAAGCTTCTGTAACACCCCA	2	Na et al., 2012	1	60
BorderB_2069a	F: GCAATCAAATTTCTGTATGATGCG	R: GCACAGAGTTGGCACAGTGG	2	Na et al., 2012	1	60
BorderB_1127a	F: CGGGTTTGTGTTGGTGGTT	R: GTTGGAGAAGTGGGCACGAG	2	Na et al., 2012	1	57
BorderB_1029a	F: TCCGAAGAAAACATTGGCCTT	R: TGGTGAGATCTTGTGAGCTTGAA	2	Na et al., 2012	1	63
86B15ctg9a	F: CCCTTATTGCCAACAAAAGAAA	R: GCATATGCATACAAAGTCTTGCC	3	Na et al., 2012	1	57
BorderB_1565a	F: TGGATTTGAATTTGGAAGCATTG	R: TGGCATGGATTCTGCAATA	3	Na et al., 2012	1	60
BorderB_1801a	F: ACTGTCGGCATTGACAGGGT	R: TCAACATCCAAACGACTTCCC	3	Na et al., 2012	1	63
BorderB_734a	F: AGTGATCTGGACGATCTGGG	R: TGCATGCATAATATGTGTCAAAA	3	Na et al., 2012	1	57
BorderB_1655a	F: CATGCTTGGCTGTCACGAAA	R: GAAGGACCCACCATCCCTTC	2	Na et al., 2012	1	60
spctg177_12a	F: TCTTGACACCTCATCCCTTGG	R: CAACGGTACACTGAATGGGGA	1	Na et al., 2012	1	60
spctg177_457a	F: CAAGGACCCAATACACCCCA	R: CAGATTCAGATTCCACCGGC	1	Na et al., 2012	1	60

Tabela 2. Cont.

Locos SSR	Sequência (5' → 3')	Sequência (3' → 5')	NA	Referência	GL	Ta (°C)
spctg177_492a	F: ACTCCAGCTAGCTAGGGAATTTT	R: GCACCACTTTCCCAATTTCA	1	Na et al., 2012	1	60
spctg177_793a	F: TCATAACTTCCCTCGTCGGC	R: GTTGCTCATCCCGAGACCTG	1	Na et al., 2012	1	60
supercontig_66_108a	F: TGAGGGCAGTGGTTACCGTT	R: TTTTGGCCAAAGCACGGTCT	1	Na et al., 2012	1	60
supercontig_66_345a	F: CCCACAATTTGCAATATGGTTCA	R: ATGCGGCTATGACTGGCAAA	1	Na et al., 2012	1	60
BorderB_1299b	F: CCTTTCATTTCCAGGGATT	R: AATGGAAGGTACTTTTCTGTGTGC	1	Na et al., 2012	1	60
BorderB_1138a	F: TGGTGGGTGGAGGAAATGT	R: TGGTCTCGATGCATGTAAGAATTG	1	Na et al., 2012	1	60
BorderB_733a	F: CTCGCATCGAGATCTGCCTT	R: AAGCCTCTCTGTGCAGCTCG	1	Na et al., 2012	1	60
BorderB_770a	F: CCGCCTGTATTCATGCGAGT	R: TGCTGTCTCTCGCCTCTCCT	1	Na et al., 2012	1	63
BorderB_242a	F: TCAGCCAATGTAGTTGTCAGGA	R: CAGCGGTAGCTGCTGTGAA	1	Na et al., 2012	1	60
BorderB_1a	F: GCAAGTCTACCGCACGCTCT	R: CGCGACTGGAAGAAGAAGGA	1	Na et al., 2012	1	63
BorderB_1655b	F: GCAAATACACCAAATGTGGCA	R: TGATAAACGGCTAAACAACGACA	1	Na et al., 2012	1	60
58C24_134a	F: CCTCGAGGAAAACTCCCAA	R: TGGGCTTCCCTCCCCTATAA	1	Na et al., 2012	1	63
spctg177_25b	F: CATCCTGTTATCGGGGCTTG	R: CCCATTTTTCTCAAATTGCTTTC	1	Na et al., 2012	1	63
CPM1554C2	F: TTGACGAATTCAAACCCATGC	R: CACCTCGTGGCATCAAACAA	2	Eustice et al., 2008	1	63
CPM2095C0	F: AAGGTCACGCATGAGTTTGC	R: CGAAAACCAACTTACCAAGATCA	2	Eustice et al., 2008	1	63
P3K6912CC	F: TGAAGCCTCAGTGAATCCAAA	R: CCCATGGGAACACATCTATTG	2	Eustice et al., 2008	2	60
CPM746LCC	F: TTATGTTTGGGAAGAACGCC	R: GCCAATTCCCACAAATCTA	2	Eustice et al., 2008	3	60
P3K3968A5	F: TGCGATCGAAAGGTTCTTGAG	R: TGAAATGGCTGGTTTTGTCA	2	Eustice et al., 2008	4	60
P3K1883CC	F: GGTTGAAACGTTAACGGCG	R: GGTAGAGAGTCAATGGATTTTGC	3	Eustice et al., 2008	4	60

Tabela 2. Cont.

Locos SSR	Sequência (5' → 3')	Sequência (3' → 5')	NA	Referência	GL	Ta (°C)
ctg-365A5	F: TTCTTTCACCCGCTCCTCTG	R: AAACAACCTCGGCCCAACTGA	3	Eustice et al., 2008	5	57
P3K23CC	F: CGTAAAGGTCGGGTCAGCTA	R: TGGTCTTCACATGAAATGAGCTT	2	Eustice et al., 2008	6	57
ctg-138A0	F: CCCACTGAAAGCTTCCTGTAAA	R: CCACACAAAGAAGACGAAACAAA	2	Eustice et al., 2008	8	60
CPM766CC	F: TACCAAGTTCAGCAAGCGGT	R: ATACTTTCTCCCCCTTCGGA	2	Eustice et al., 2008	8	60
P3K1497CC	F: TGACGGTGAAAATTGCAACA	R: AAAAGGGGAGTCCAAATTGGTT	2	Eustice et al., 2008	9	60
P3K2935CC	F: TGCAGAGAAGGAAAGGAGGAAA	R: TCCGTTGATGTTACAACTCCAAAT	2	Eustice et al., 2008	9	60
CPM2098A5	F: TGATTGGCATGATTGGTTGG	R: CGACCTCTCGCTTATGGACTG	3	Eustice et al., 2008	10	60
P3K149C0	F: TGGTGGATGTTGATGCATGTT	R: TCTGGTGGTCATGATGGTGG	2	Eustice et al., 2008	11	60
P3K3510C0	F: GTAGCCGAACGCACAACACA	R: CGTGTAAGAAGCGGTAGATCG	2	Eustice et al., 2008	12	60
P8K39CC	F: CGTCAAGTTGTTGGGTTGGTC	R: TGACATCTCCGAAGAGCTGAGA	1	Eustice et al., 2008	1	60
P3K2388C0	F: GCACACATAAAAATGTGCTTCG	R: TGCAAAGTCTCTGCTTTCAAGA	1	Eustice et al., 2008	1	57
P3K418CC	F: CGTAAAGACTTGTTCCTTACGC	R: CCAAGACTTGATAACGGCTC	1	Eustice et al., 2008	1	60
P3K8229CC	F: TTCCCGACCATTCTCGTAA	R: CACATGAACTGTCCCCAGCA	1	Eustice et al., 2008	2	60
P3K1850CC	F: TTTCTCCCACATGACCCACA	R: GGGGGTGTCTTGAATCTTT	1	Eustice et al., 2008	2	60
P3K1776CC	F: TGTTTGCATTTTTGCTTTCCC	R: AATGATCAATCCCTACGCGTTC	1	Eustice et al., 2008	3	57
CPM1621CC	F: ATGGTAACCCAGCGTGAGGA	R: ACGCCAAATATTCCCAACCC	1	Eustice et al., 2008	3	57
CPM765LCC	F: CAACGCTCTCCCTCTCTCTC	R: AACTCTGACCCATGACCAGC	1	Eustice et al., 2008	3	57
ctg-364CC	F: TTTGCACATAACCCTTCTTGA	R: AAAAGGAAATGATTGCAAGATTGA	1	Eustice et al., 2008	3	60
P3K398CC	F: GTGGGAGAATTCGAGCATCC	R: TGATTATGCCCAAAGCCCAT	1	Eustice et al., 2008	4	57

Tabela 2. Cont.

Locos SSR	Sequência (5' → 3')	Sequência (3' → 5')	NA	Referência	GL	Ta (°C)
P3K2152CC	F: CTCCAAGAAAACCTTTGACATGGG	R: CAATTATGAGCCGGTCACTAACAA	1	Eustice et al., 2008	5	60
P3K3256CC	F: CGACAAGGAAATTAAGCCAAATC	R: ATGACCGTGTTTGGTTGCTG	1	Eustice et al., 2008	5	60
P3K6467CC	F: GGGGGACCATCTTCTCTCT	R: CTTGGGTTGAGATGCTCTCCT	1	Eustice et al., 2008	6	57
ctg-304A5	F: GGCAATCCTTTTAGCGACCC	R: TAGTCGTCGCCGGAATCTGT	1	Eustice et al., 2008	6	60
P3K5113C0	F: CGAAAACCTCTCAGGCGCATC	R: CCCCCATCTACTCTCCCATCA	1	Eustice et al., 2008	6	60
ctg-733A5	F: ACCAAAGAGCTTGATGTCAAACAA	R: TTTGTCCACTTCTCTCATTTGGG	1	Eustice et al., 2008	7	57
CPM1846CC	F: GCCCACACTCTTGATGGGAC	R: TCGAGAAAGTCCCATCCTTAACA	1	Eustice et al., 2008	7	60
ctg-64CC	F: CATCCCGAACTACTCACATAAACA	R: TGCTTGCTGCTCACTTATGG	1	Eustice et al., 2008	7	60
ctg-456CC	F: TGAATTCAAATGCTGCCTCAG	R: GGACCTATCAGTTCAACTTCCCA	1	Eustice et al., 2008	7	57
P3K7484C0	F: CGGTAGCGACTCATCGGACT	R: TTGACTCGCGAGGAAAGGAG	1	Eustice et al., 2008	10	60
P6K1472C0	F: GAAGGAGCATCCATCGCAAC	R: CCAGTCCATTTTCCAGCCAA	1	Eustice et al., 2008	1	63

Ta= temperatura de anelamento do *primer* em °C. GL= Grupo de ligação.

Tabela 3. Primers utilizados na análise de 16 genótipos de mamoeiro, com respectivas sequências, número de alelos por loco (NA), referência, grupos de ligação (GL) e temperatura de anelamento (Ta)

Locos específicos	Sequência (5' → 3')	Sequência (3' → 5')	Amplificação/tipo sexual	Referência	Ta (°C)
W 11	F: CTGATGCGTGTGTGGCTCTA	R: CTGATGCGTGATCATCTACT	XY/XY ^h	Deputy et al., 2002	57
PMSM1	F: GGTCCATAAGACTCCTGAAG	R: TCGTGTTGTTAGGCCAAGTG	XY/(XY → XY ^h)	Liao et al., 2017	57
71E	F: TTCCATCGAGCTTCCTAGTC	R: GCGACTACTCTACCATGCTT	XY/XX/XY ^h	Liao et al., 2017	57

Ta= temperatura de anelamento do *primer* em °C. GL= Grupo de ligação. XY= sexo masculino. XX= sexo feminino. XY^h= sexo hermafrodita. XY → XY^h = plantas com reversão sexual de masculina para hermafrodita.

3.1.3.3 Análise estatística

Os dados obtidos a partir da amplificação dos locos microssatélites da região HSY e das regiões autossômicas foram convertidos em uma matriz numérica, conforme descrito por Ramos et al. (2011b). Esta matriz foi utilizada para a obtenção da matriz de dissimilaridade genética através do Índice Ponderado, utilizando o *software* Genes (Cruz, 2013). A análise de agrupamento pelo método hierárquico UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean Analysis*) foi realizada através do pacote *cluster/rect.hclust* no *software* R (*Development Core Team*, 2011). A dispersão gráfica no plano bidimensional com base no método da Análise das Coordenadas Principais (PCoA) utilizou o programa *GenAlex 6* (Peakall e Smouse, 2007) e a estimativa da heterozigose observada (H_o) e do coeficiente de endogamia (f) foi realizada pelo programa *PowerMarker* versão 3.25 (Liu e Muse, 2005).

3.1.4 RESULTADOS

Os parâmetros de diversidade genética, heterozigosidade observada (H_o) e coeficiente de endogamia (f), foram estimados para os 15 genótipos de *C. papaya* com base nos 15 locos SSR da região HSY, 15 locos SSR autossômicos e para as duas regiões em conjunto (Tabela 3).

Com base nos locos da região HSY, foi gerado um total de 40 alelos com média de 2,67 alelos/loco; a H_o variou de 0 a 0,53 com média de 0,23 e o f de 0,047 a 1, com média de 0,57. Na região autossômica foi gerado um total de 42 alelos com média de 2,8 alelos/loco; a H_o variou de 0 a 0,47 com média de 0,29 e o f de 0,15 a 1 com média de 0,48. Analisando as duas regiões, ou seja, os 30 locos em conjunto, foi observado um total de 43 alelos, com média de 2,87 alelos/loco; a H_o variou de 0,03 a 0,47 com média de 0,26 e o f de 0,18 a 0,94 com média de 0,52.

Tabela 3. Heterozigosidade observada (H_o) e coeficiente de endogamia (f) estimado para os 15 genótipos de *C. papaya*, a partir da análise de 15 locos SSR da região HSY, 15 locos SSR da região autossômica e dos 30 locos em conjunto.

Genótipos	Sexo	Obtenção	Locos da região HSY		Locos autossômicos		Locos HSY+ autossômicos	
			H_o	F	H_o	F	H_o	F
M_3 – 5	XX	Cruzamento	0,15	0,71	0,36	0,31	0,26	0,49
M_3 - 7	XX	Cruzamento	0,13	0,72	0,27	0,52	0,20	0,60
M_3 - 8	XX	Cruzamento	0,00	1,00	0,27	0,54	0,13	0,74
M_3 - 4	XX	Cruzamento	0,13	0,72	0,40	0,28	0,27	0,48
Hermafrodita M3	XY ^h	Cruzamento	0,38	0,34	0,47	0,15	0,43	0,23
M_3 - 3	XX	Cruzamento	0,36	0,34	0,33	0,40	0,34	0,36
M_3 – 2	XX	Cruzamento	0,20	0,62	0,40	0,23	0,30	0,41
M_3 – 9	XX	Cruzamento	0,20	0,66	0,27	0,55	0,23	0,59
Cariflora	XX	Cruzamento	0,08	0,86	0,21	0,60	0,15	0,72
Cimarron	XX	Autofecundação	0,53	0,05	0,40	0,30	0,47	0,18
Maradol_mx	XY ^h	Autofecundação	0,28	0,48	0,00	1,00	0,14	0,73
Sekati	XY ^h	Autofecundação	0,33	0,39	0,28	0,51	0,31	0,46
Maradol_GL	XY ^h	Autofecundação	0,43	0,32	0,33	0,39	0,38	0,34
Criola_CR	XX	Cruzamento	0,21	0,65	0,36	0,35	0,29	0,49
‘Golden’	XY ^h	Autofecundação	0,07	0,88	0,00	1,00	0,03	0,94
Média			0,23	0,57	0,29	0,48	0,26	0,52

XX= sexo feminino. XY^h=sexo hermafrodita.

Observando-se o agrupamento dos *locos* da região HSY (figura 2a), pode-se constatar o grupo I formado pelos genótipos Criola de Costa Rica e ‘Golden’, o grupo II composto pelo genótipo Maradol origem México (MX) e o grupo III, reunindo a maior parte dos genótipos, agrupando todos os genótipos da progênie dioica M3, além do genótipo hermafrodita M3 e quatro testemunhas, sendo dois genótipos dioicos (Cariflora e Cimarron) e dois genótipos hermafroditas (Maradol GL e Sekati).

Na análise de agrupamento dos *locos* autossômicos (figura 2b), podem-se verificar Cimarron, Sekati, Maradol GL, Maradol Origem México e Hermafrodita M3 compondo o grupo I; os genótipos da progênie dioica M3 formando o grupo II e os genótipos Criola de Costa Rica, Cariflora e ‘Golden’ formando o grupo III.

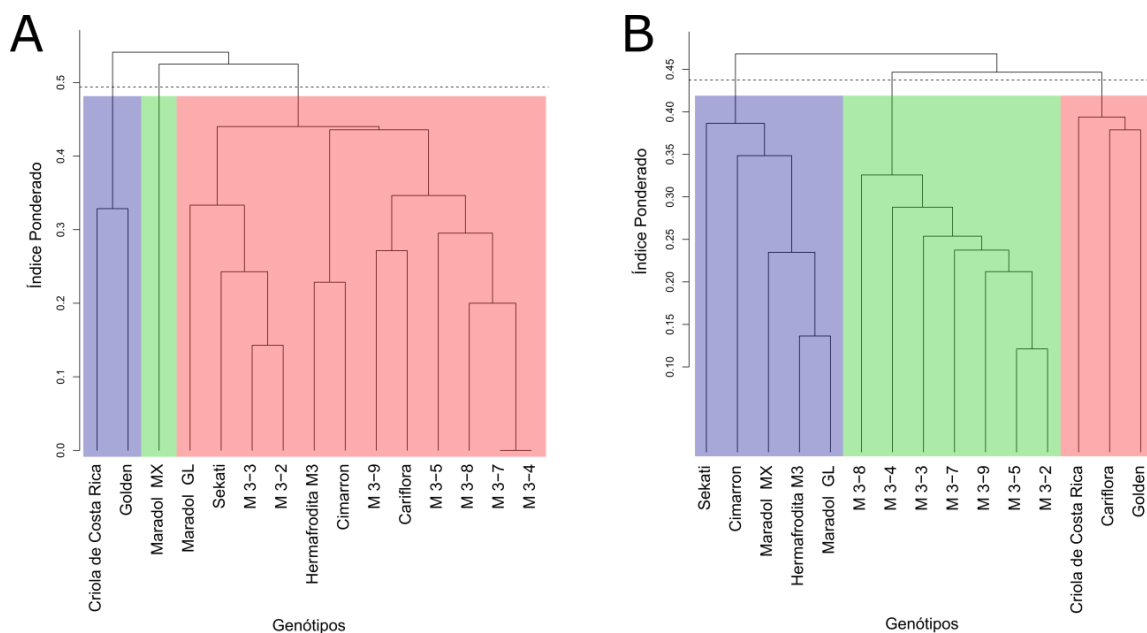


Figura 2 - Dendrograma de dissimilaridade genética entre 15 genótipos de *C. papaya*, do Banco Germoplasma UENF/Caliman, obtidos pelo método de agrupamento UPGMA. A- Com base na análise de 15 locos microssatélites da região HSY (Coeficiente de correlação cofenética: 0,73; Estresse: 19,46; Distorção: 3,78); B- Com base na análise de 15 locos microssatélites autossômicos (Coeficiente de correlação cofenética: 0,73 Estresse: 18,34; Distorção: 3,36).

Quando analisados os locos da região HSY em conjunto com os locos autossômicos (figura 3), o grupo I foi formado pelos genótipos Criola de Costa Rica e pela cultivar 'Golden'; o grupo II agrupou a maior parte dos genótipos (todos os genótipos da progênie dioica, M 3-7, M 3-4, M 3-8, M 3-5 e M 3-9, mais o genótipo dioico Cariflora); e o grupo III reuniu os genótipos Maradol MX, Maradol GL e Sekati e o genótipo hermafrodita M3, fortemente ligado ao Cimarron (testemunha dioica).

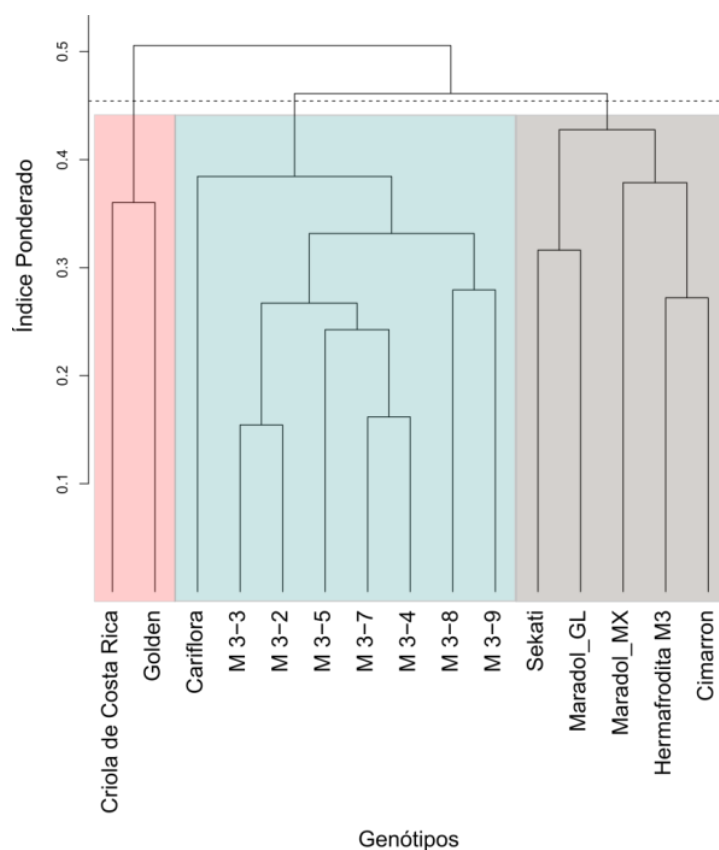


Figura 3 – Dendrograma de dissimilaridade genética entre 15 genótipos de *C. papaya* do BAG UENF/Caliman, obtidos pelo método de agrupamento UPGMA, com base nos 30 locos microssatélites (Coeficiente de correlação cofenética = 0,81; Distorção = 1,95; Estresse = 13,98).

Os genótipos também foram analisados a partir da análise da dispersão gráfica baseada na análise das coordenadas principais (PCoA), conforme apresentado na figura 4, utilizando os 30 locos SSR em conjunto (HSY e autossômicos). As duas primeiras coordenadas juntas explicaram 50,05% da variação total dos dados, sendo que 20,93% dessa variação foi explicada pela coordenada 1 e 36,19% explicada pela coordenada 2. Verificam-se nos quadrantes I e II o genótipo hermafrodita sob investigação, todos as testemunhas hermafroditas e as testemunhas dioicas Cimarron e Criola de Costa Rica, enquanto nos quadrantes III e IV encontram-se todos os genótipos da progênie dioica M3 e o genótipo dioico Cariflora utilizado como testemunha.

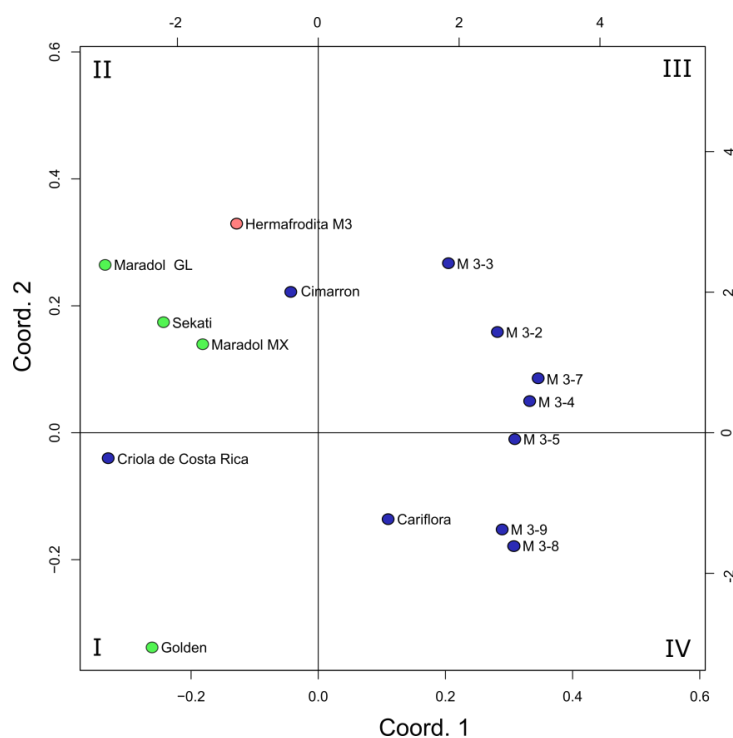


Figura 4 - Projeção de distância no plano bidimensional utilizando duas coordenadas entre 15 genótipos de *C. papaya*, utilizando os 30 locos SSR em conjunto (HSY e autossômicos).

Na Figura 5, são apresentados os padrões de amplificação obtidos para os 16 genótipos analisados utilizando o marcador macho específico PMSM1, o loco 71E como controle positivo, que amplifica um fragmento autossômico nos três tipos sexuais e o marcador específico masculino/hermafrodita W11, que amplifica um fragmento em plantas masculinas e hermafroditas, mas não amplifica em plantas femininas.

Conforme pode ser observado no perfil eletroforético dos fragmentos obtidos, todos os genótipos amplificaram para o marcador 71E utilizado como controle positivo. Para o marcador específico masculino/hermafrodita (W11), em consonância com o esperado, não houve amplificação para os genótipos femininos, apenas para os genótipos hermafrodita e masculino. No entanto, foi observada ausência de amplificação para o genótipo hermafrodita Maradol GL, ou seja, a presença de uma planta falso-negativa (planta 13). Para o marcador PMSM1 foi observada amplificação apenas no genótipo masculino, não havendo amplificação nos genótipos femininos e hermafroditas, indicando, portanto, que o material investigado hermafrodita M3 (planta 5) não sofreu reversão sexual de uma planta masculina para hermafrodita

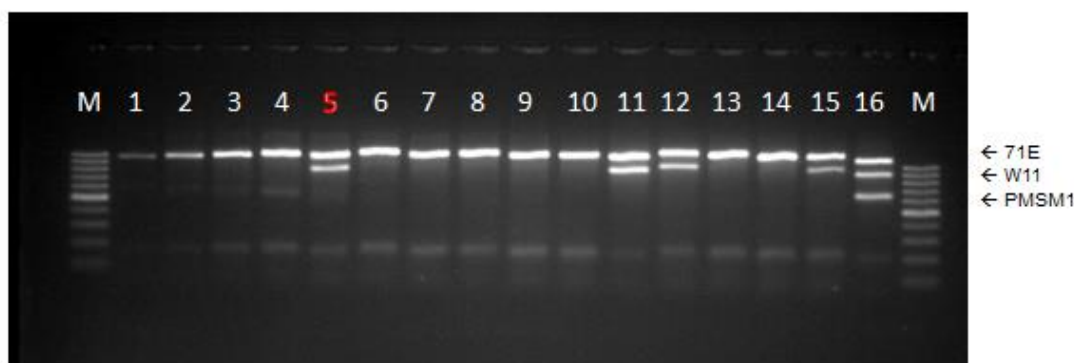


Figura 5 - Amplificação de fragmentos machos-específicos utilizando o marcador PMSM1. O marcador 71E foi utilizado como controle positivo que amplifica um fragmento autossômico de todos os três tipos sexuais. O marcador específico W11 amplifica um fragmento de plantas masculinas e hermafroditas, mas não planta feminina. M: marcador 100 pb; 1: M3-5; 2: M3-7; 3: M3-8; 4: M3-4; 5: Hermafrodita M3; 6: M3-3; 7: M3-2; 8: M3-9; 9: Cariflora; 10: Cimarron; 11: Maradol_MX; 12: Sekati; 13: Maradol_GL; 14: Criola de Costa Rica; 15: 'Golden'; 16: masculina.

3.1.5 DISCUSSÃO

Quanto à análise dos parâmetros descritivos de diversidade genética para a região HSY, não era esperado a amplificação dos genótipos femininos a partir de locos SSR da região HSY, porém, os marcadores estão localizados nas bordas A e B que são regiões comuns para os cromossomos X e Y^h , ou seja, possuem similaridade de sequência nucleotídica (Na et al., 2012), justificando a endogamia elevada observada nos genótipos hermafroditas, apesar das diferenças entre os cromossomos X e Y^h .

Em relação à região autossômica, baixa endogamia e maior heterozigose foram observados nos genótipos dioicos, corroborando os resultados relatados por Ramos et al. (2014), ao analisar tal parâmetro em genótipos hermafroditas e dioicos de mamoeiro. Observa-se que o genótipo hermafrodita M3 apresentou um perfil de amplificação semelhante aos materiais dioicos considerando a análise dos locos autossômicos. Os genótipos 'Golden' e Maradol MX apresentaram endogamia igual a 1, conforme observado para linhagens em trabalho realizado por Oliveira et al. (2010b). Considerando a análise dos 30 locos em conjunto, o hermafrodita M3 apresentou baixa endogamia e maior heterozigosidade, assim como o Cimarron testemunha dioica.

Com base na análise de agrupamento, considerando a hipótese de ocorrência de reversão sexual, o esperado é que houvesse uma maior proximidade genética entre o genótipo hermafrodita M3 e as testemunhas hermafroditas para os locos da região HSY, tendo em vista que estudos têm apontado que nesta região encontram-se os genes que controlam a determinação do hermafroditismo e da masculinidade (este último na contraparte do cromossomo Y - região MSY).

Para a análise dos locos autossômicos, ainda na hipótese de reversão sexual, seria esperado uma menor distância entre o genótipo hermafrodita M3 e os genótipos dioicos, haja vista que modificações gênicas ou rearranjos cromossômicos nestas regiões provavelmente não resultariam na modificação do tipo sexual, uma vez que os genes envolvidos nesta característica se encontram em regiões específicas dos cromossomos sexuais. Por outro lado, na hipótese de contaminação por pólen, espera-se uma semelhança do genótipo hermafrodita M3, tanto com os hermafroditas quanto com os genótipos dioicos da progênie M3, agrupando-se entre a progênie dioica M3 e as testemunhas hermafroditas, tendo em vista a contribuição de ambos os gametas para a formação do embrião e, conseqüentemente, da planta. Portanto, o agrupamento do hermafrodita M3 próximo dos dioicos, quando analisado os locos da região HSY e dos hermafroditas nas regiões autossômicas, fugiu do padrão esperado, tanto para a hipótese de reversão sexual quanto para a hipótese de contaminação por pólen.

Quanto à análise de projeção de distância no plano bidimensional utilizando duas coordenadas, os genótipos Criola de Costa Rica e Cimarron foram exceções, pois, embora sejam materiais dioicos, as regiões genômicas analisadas apresentaram maior similaridade genética desses genótipos com as testemunhas hermafroditas devido à maior proximidade observada quando as distâncias genéticas foram plotadas no plano, corroborando com o agrupamento observado (figura 3) para os 30 locos.

A partir da análise de agrupamento dos genótipos não foi possível concluir com clareza se o genótipo hermafrodita M3 é resultante de uma reversão sexual ou contaminação, porque apesar de haver evidências da ocorrência de uma contaminação de pólen quando analisados os 30 locos em conjunto, quando analisado separadamente os locos da região HSY e autossômicos não se observou o esperado para esta hipótese. Diante disso, justificou-se o emprego do marcador loco específico PMSM1 na segunda etapa do trabalho, em função da especificidade

deste marcador na identificação de mutantes com reversão sexual de masculino para hermafrodita, conforme proposto por Liao et al. (2017).

O marcador PMSM1, conforme relatado por Liao et al. (2017) foi desenhado com base na sequência de 8396 pb de inserção específica na região MSY, não amplificando, portanto, em plantas femininas e hermafroditas. Este marcador apresenta eficácia na identificação de plantas com reversão sexual masculina para hermafroditas, embora haja apenas 0,4% de diferença entre as regiões HSY e MSY. Dessa forma, observou-se a ausência de amplificação no genótipo hermafrodita M3 (planta 5) para o marcador PMSM1, indicando que não ocorreu uma mutação ou reversão sexual natural, evidenciando-se uma provável contaminação. Possivelmente houve uma contaminação por pólen do genótipo Maradol utilizado como testemunha no experimento para avaliação da resistência à mancha-do-phoma e à pinta-preta, do qual a progênie dioica M3 analisada no presente estudo foi selecionada (Vivas, et al., 2012b). Durante a condução de tal experimento com as progênies dioicas foi adotada a conduta de livre polinização, ou seja, ausência de controle nos cruzamentos possibilitando a fecundação mediada por agentes polinizadores como insetos ou pólen disperso pelo vento. Santos et al. (2008), estudando as modificações anatômicas ocorridas durante o desenvolvimento do grão de pólen do mamoeiro, observaram que eles exibem uma natureza lipídica. Os autores correlacionaram essa natureza lipídica com a ocorrência da anemofilia na cultura. Validando as observações feitas por Storey (1969) de que o vento era o principal meio de dispersão de pólen da cultura de mamoeiro (Storey 1969 *apud* Santos et al., 2008).

A proporção esperada em cruzamentos controlados entre uma planta feminina e uma hermafrodita é de 1:1 (Ming et al., 2007). No entanto, não foi observada essa proporção em campo quando a progênie dioica M3 foi plantada, provavelmente em função da ausência de controle nos cruzamentos.

A ausência de amplificação observada para o marcador W11 no genótipo Maradol GL, uma testemunha hermafrodita (figura 5, planta 13), foi um resultado falso-negativo, ou seja, ausência de bandas em genótipo sabiamente hermafrodita. Resultados semelhantes foram constatados por Deputy et al. (2002) e Oliveira et al. (2007) que também verificaram a ocorrência de falso-negativas em estudos com o marcador W11.

De acordo com os dados gerados pelos locos microssátelites e do loco macho-específico, evidencia-se uma provável contaminação por pólen entre a progênie dioica M3 resistente e o Maradol, originando o genótipo hermafrodita M3. Embora evidenciado na análise molecular que não se tratou de reversão sexual, o genótipo hermafrodita M3 foi avaliado quanto às características morfoagronômicas e de resistência à pinta-preta e mancha-de-phoma em condições de campo, uma vez que este genótipo pode ser interessante se constatado superioridade para atributos agronômicos e quanto à resistência a tais doenças. Um genótipo hermafrodita resistente possibilitará a utilização em novas hibridações para obtenção de híbridos estáveis, surgindo como uma alternativa para a produção sustentável da cultura, com menor impacto ao meio ambiente, tendo em vista a redução do uso de fungicidas, contribuindo ainda com a qualidade dos frutos, visto que resíduos de agrotóxicos podem acarretar males à saúde quando consumidos em grande quantidade (Nunes e Ribeiro, 1999) além de ser obstáculo à exportação do mamão (Oliveira et al., 1994).

3.1.6 CONCLUSÕES

De acordo com o resultado da análise molecular realizada no presente estudo, o genótipo hermafrodita identificado na progênie dioica M3 resistente à mancha-do-phoma e à pinta-preta não consiste em uma mutação ou reversão sexual natural, evidenciando-se uma provável contaminação de pólen ou mistura de sementes.

3.2 AVALIAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E DE RESISTÊNCIA À PINTA-PRETA E MANCHA-DE-PHOMA EM GENÓTIPO HERMAFRODITA M3

3.2.1 INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*C. papaya*) é uma das fruteiras tropicais de maior importância no Brasil. Atualmente, o Brasil é o segundo maior produtor mundial, ficando atrás somente da Índia (FAO, 2014). De acordo com o anuário brasileiro de fruticultura (Carvalho et al., 2017), nos últimos anos houve uma redução na produção de várias fruteiras dentre elas o mamoeiro com uma redução de 8,7% devido às condições climáticas desfavoráveis, conseqüentemente, provocando um declínio nas exportações. Além dos fatores econômicos, existem outras importantes limitações à exportação do mamão brasileiro. Do ponto de vista fitossanitário, merece destaque a incidência de doenças na cultura, durante a fase de produção e na pós-colheita (Vivas et al., 2013a).

De acordo com Dias et al. (2011), a cultura do mamoeiro baseia-se no cultivo de um número reduzido de variedades, resultando em restrita variabilidade genética, podendo levar à maior vulnerabilidade a doenças, pragas e variações edafoclimáticas, comprometendo a sustentabilidade desse cultivo.

Em mamoeiro, há relatos de progênies crioulas como fonte de resistência a pinta-preta, causada por *Asperisporium caricae* (Speg.) Maubl. (Vivas et al., 2012b; Vivas et al., 2013b). Acredita-se que elas também possam contribuir quanto à resistência a outras doenças, notadamente à mancha-de-phoma, sendo importante

conhecer a variabilidade existente em tais progênies (Vivas et al., 2014). Foi relatada a possibilidade de serem obtidos ganhos genéticos, tanto para resistência a mancha-de-phoma (Vivas et al., 2014) quanto a pinta-preta (Vivas et al., 2012b; Vivas et al., 2013b), destacando as progênies STA-02, STA-04, STA-08, STA-13, STA-15 e STA-16 como mais promissoras para redução da severidade da pinta-preta em folhas de mamoeiro e para o aumento de folhas sem sintomas de pinta-preta.

Avaliando a severidade e a incidência da mancha-de-phoma em banco de germoplasma e híbridos de mamoeiro em condições de campo, Vivas et al. (2010a) observaram variabilidade entre os materiais avaliados, sendo os genótipos 'Maradol', 'Maradol GL', 'Papaya 46', 'Tailândia' e 'SH 15-04' que apresentaram menores severidades à doença e os que apresentaram menores incidências foram 'Maradol', 'Maradol GL', 'Americano', 'Tailândia' e 'Baixinho de Santa Amália'. Contudo, os autores ressaltam que até o momento, nenhum genótipo foi identificado com resistência total ou imunidade à mancha-de-phoma. Segundo esses autores, como inexitem variedades resistentes, a pulverização de fungicidas tornou-se a principal medida de controle. Porém, o custo econômico, ambiental e social atribuído ao uso de agrotóxicos, bem como o surgimento de isolados de fitopatógenos resistentes a fungicidas no campo requerem pesquisas na busca de alternativas de controle de maior sustentabilidade, como o uso de cultivares geneticamente resistentes (Vivas et al., 2010a).

Deste modo, o desenvolvimento de variedades com boas características agronômicas, elevada qualidade de frutos e, ainda, com resistência a doenças, é um grande desafio para os melhoristas da cultura, visto que essas características não têm sido encontradas em um único genótipo (Dias et al., 2011). Nesse contexto, o genótipo hermafrodita M3 provavelmente oriundo de um cruzamento entre a progênie dioica M3 e o Maradol foi avaliado quanto às características morfoagronômicas e de resistência à pinta-preta e mancha-de-phoma em condições de campo, uma vez que este genótipo pode ser interessante, se constatado superioridade para atributos agronômicos e quanto à resistência a tais doenças.

3.2.2 REVISÃO

3.2.2.1 Ocorrência de doenças na cultura do mamoeiro

Dentre as principais doenças que acometem o mamoeiro podem ser citadas o mosaico ou vírus da mancha anelar, antracnose, a mancha-chocolate, pinta-preta, oídio, meleira e podridão do pé (Rezende e Martins, 2005).

Ao analisar o histórico do cultivo do mamoeiro no Brasil, verifica-se que, além de afetar a rentabilidade e os padrões comerciais, as doenças causadas por vírus resultaram na migração da cultura. Segundo Ruggiero et al. (2011), a ocorrência endêmica de uma doença virótica, denominada “mosaico do mamoeiro” em 1967, na região de Monte Alto-SP, provocou a migração da cultura para outras regiões agrícolas de São Paulo até o seu completo desaparecimento do Estado. Segundo esses autores, a partir de 1975/76 a cultura migrou para outras regiões do País como o nordeste do Pará, extremo sul da Bahia e norte do Espírito Santo.

Atualmente a maior produção de mamão no Brasil se concentra nos estados da Bahia e norte do Espírito Santo. No entanto, verifica-se uma limitação quando se trata da exportação dos frutos, isso em função da ocorrência de doenças, sobretudo as que ocorrem em pós-colheita. A podridão-peduncular é causada por um complexo de fungos, (Alvarez e Nishijima, 1987; Rezende e Francelli, 1997), encontrando-se relatos de 100% de incidência de podridão-peduncular em frutos após a colheita, quando na ausência de medidas de controle (Liberato e Costa, 1997).

Considerada a segunda doença mais importante em pós-colheita no Brasil, a mancha-de-phoma (Rezende e Francelli, 1997) mostra-se de difícil controle nas áreas comerciais da Empresa Caliman Agrícola S/A, no município de Linhares, Espírito Santo (Vivas et al., 2010a).

Dessa forma torna-se imprescindível o controle dessa doença nas folhas, visando a redução da incidência de podridão peduncular em pós-colheita (Vivas et al., 2010a). Além da mancha-de-phoma, outra doença fúngica de ocorrência em folhas e frutos e difícil controle é a pinta-preta (Vivas, 2009), responsável pelo depreciação comercial dos frutos ainda verdes (Rezende e Martins, 2005). Épocas de chuva e alta umidade favorecem ainda mais o aparecimento das lesões

em folhas e frutos (Manica, 1982; Luna, 1986), contribuindo para a dispersão da doença.

Para o incremento da produção e exportação, a cultura do mamoeiro necessita superar esses problemas fitossanitários, uma vez que os níveis de incidência e severidade são frequentemente tão altos que o controle das doenças é imprescindível para obter produções rentáveis e aceitáveis pelo mercado (Suzuki et al., 2007).

Conforme Moraes (2007), as doenças podem ser quantificadas por métodos diretos de avaliação dos sintomas e sinais, como a incidência e severidade. A intensidade é o método quantitativo mais comum de medição de doença, sendo obtido pela contagem de plantas doentes ou órgãos doentes, através do número e/ou porcentagem (frequência) de folhas, folíolos, frutos, ramos infectados, sem levar em consideração a quantidade de doença em cada planta ou órgão, individualmente. Por outro lado, a severidade é um método que procura determinar a porcentagem da área de tecido doente (sintomas e/ou sinais visíveis), através da medição direta da área afetada, com medidores de área em computador ou não, chaves descritivas, diagramáticas, medição automática e sensores remotos.

Considerando a inexistência de métodos padronizados, para quantificação da severidade de pinta-preta em frutos de mamoeiro, Vivas et al. (2010b) elaboraram e validaram uma escala diagramática com os níveis de severidade: 0,1; 0,3; 0,6; 1,2; 2,5; 5,0; 10,0 e 20,0%, objetivando a padronização das avaliações da severidade da pinta-preta em frutos de mamoeiro. A escala diagramática proposta, auxiliou nas estimativas da doença, com bons níveis de acurácia e precisão. Além de ser uma escala de fácil utilização, ela pode ser aplicada a várias situações: levantamentos de campo, estudos de progresso e disseminação da doença, resistência quantitativa de germoplasmas de mamoeiro e estudos de controle da doença nos frutos em pré e pós-colheita (Vivas et al., 2010b). Além da utilização na cultura do mamoeiro as escalas têm se mostrando eficientes na avaliação de lesões em doenças do algodoeiro (Araújo et al., 2004), batata (Zachmann, 1982) e café (Costa et al., 1978).

3.2.2.2 Pinta-preta [*Asperisporium caricae* (Speg.) Maubl.]

A Pinta-preta, cujo agente causador é *Asperisporium caricae* (Speg.) Maubl., pode infectar tanto as folhas como os frutos. De acordo com Santos Filho et al.

(2007), nas folhas, geralmente nas mais velhas, aparecem na face superior, pequenas lesões mais ou menos circulares, de coloração pardo-claro com um halo amarelado (Figura 1A) enquanto face inferior das folhas, uma massa escura formada por esporos do fungo pode ser observada no local correspondente à lesão (Figura 1B).

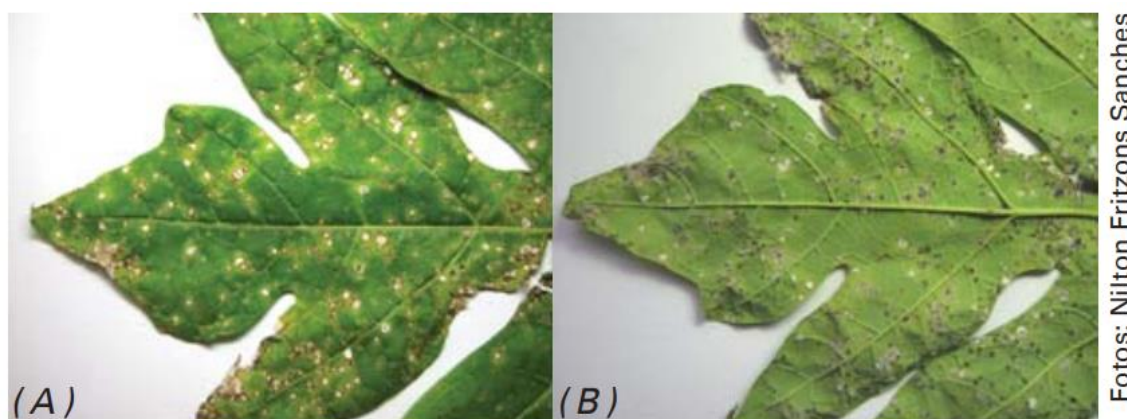


Figura 1. Lesões de pinta preta na parte superior (A) e na face inferior (B) de folha de mamoeiro (Santos Filho et al., 2007).

Ainda conforme Santos Filho et al. (2007) nos frutos, os sintomas iniciam-se quando eles estão ainda pequenos e verdes e apresentam áreas com lesões circulares de aspecto encharcado, em cujo centro notam-se pontos esbranquiçados, os quais posteriormente tornam-se pardacentos e salientes (Figura 2). Com o desenvolvimento dos frutos, as lesões tornam-se maiores e mais escuras (Figura 3).

Embora as lesões não atinjam a polpa do fruto, causando na parte afetada apenas um endurecimento da casca, tais sintomas desvalorizam o produto para o comércio (Rezende e Francelli, 1997). A doença é muito difundida na cultura do mamoeiro e segundo Liberato et al. (2007), pode ser encontrada na África (África do Sul, Quênia, Tanzânia, Zimbábue), Oceania (Austrália, Ilhas Salomão), América do Norte (Canadá, México, Estados Unidos da América, Jamaica, Flórida, Porto Rico) América Central (Cuba, El Salvador), América do Sul (Argentina, Brasil, Colômbia, Peru e Venezuela) e Ásia (Índia, Japão, Sri Lanka).



Foto: Nilton Fritzon Sanches

Figura 2. Lesão nova de pinta preta com poucas pontuações de coloração marrom em frutos de mamoeiro (Santos Filho et al., 2007).



Foto: Antonio Alberto Rocha

Figura 3. Lesões de pinta preta em frutos de mamoeiro (Santos Filho et al., 2007).

Acredita-se, que a pinta-preta assim como outras doenças fúngicas pode ter o desenvolvimento afetado devido ao efeito dos fatores climáticos que atuam durante o progresso dessas doenças. Nesse sentido, Suzuki et al. (2007) avaliaram o progresso de doenças fúngicas do mamoeiro e os efeitos dos fatores climáticos, identificando para a pinta-preta condições favoráveis ao desenvolvimento de epidemias em temperatura variando de 25° C a 30° C e umidade relativa variando

de 80 % a 100 %, o pico da intensidade da doença ocorreu entre os meses de novembro a março. Segundo Zambolim et al. (2006), a severidade da pinta-preta do mamoeiro está diretamente relacionada com o período de chuvas, por isso o controle da doença deve ser iniciado nessa época.

A principal forma de controle da pinta-preta no mamoeiro baseia-se, sobretudo, na aplicação de fungicidas (Rezende e Martins, 2005). Uma alternativa ao controle químico é a utilização da resistência genética (Dianese et al., 2007, Vivas et al., 2012b, Vivas et al., 2013b, Vivas et al., 2013c).

3.2.2.3 Mancha-de-phoma [*Stagonosporopsis caricae* (Sydow & P. Sydow)]

Na fase de produção verifica-se nas folhas do mamoeiro a ocorrência da mancha-de-phoma, ocasionada por *Stagonosporopsis caricae* (Sydow & P. Sydow) Aveskamp, Gruyter & Verkley [=Phoma caricae-papayae (Tar) Punith.] (Aveskamp, et al., 2010) um fungo bastante difundido em regiões tropicais (Hine et al., 1965; Hunter e Budderhagen, 1972).

Os sintomas aparecem primeiramente na forma de manchas claras na superfície inferior (Figura 4) e depois tornam-se aparentes também na superfície superior, concentrando-se próximo à margem da folha. As pequenas manchas tornam-se necróticas, crescem e podem atingir 4 cm de diâmetro (Liberato e Zambolim, 2002).

Vivas et al. (2010a) relatam que este fungo tem se mostrado de difícil controle em áreas comerciais do município de Linhares, Espírito Santo. Conforme os autores, nesta região a doença tem ocorrido nas folhas, aumentando o potencial de inóculo em campo, já que as folhas senescentes de mamoeiro podem servir como fonte de inóculo de *S. caricae* (= *P. caricae-papayae*) para os frutos. Epidemias durante o crescimento vegetativo e na fase de frutificação geram inóculo que passa das folhas para os frutos, gerando a incidência da podridão peduncular em pós-colheita (Vivas et al., 2013a).



Figura 4. Lesões de mancha-de-phoma em folhas de mamoeiro (Carlos Eduardo Pessanha da Silva Terra, dados não publicados).

As doenças pós-colheita são um dos principais fatores limitantes à exportação de mamão, especialmente a antracnose causada por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. e a podridão peduncular, causada por diversos fungos (Alvarez e Nishijima, 1987) principalmente por *Colletotrichum gloeosporioides* e *Stagonosporopsis caricae* (Sydow & P. Sydow) Aveskamp, Gruyter & Verkley [= *Phoma caricae-papayae* (Tar) Punith.] (Liberato e Tatagiba, 2001; Rezende e Martins, 2005; Aveskamp et al., 2010). Na ausência de medidas de controle, a incidência de *S. caricae* pode chegar a 91% de antracnose e 100% de podridão peduncular em frutos após a colheita (Liberato e Costa, 1997).

Controlar a epidemia da mancha-de-phoma nas folhas reduz a incidência de podridão peduncular nos frutos em pós-colheita como já relatado por Suzuki et al. (2007). Os autores observaram redução de até 24% na incidência de podridão-peduncular, quando foi efetuada a sanitização, que consiste na remoção das folhas senescentes e doentes durante a frutificação. Além da sanitização, outra medida de controle alternativo ao químico consiste no plantio de variedades resistentes (Vivas et al., 2013a) à seleção de materiais genéticos resistentes mancha-de-phoma, uma estratégia promissora para o controle desta doença (Vivas et al., 2014) uma vez que trabalhos anteriores comprovam a existência de variabilidade genética (Vivas et al., 2010a).

3.2.2.4 Melhoramento do mamoeiro voltado à resistência à pinta-preta e mancha-de-phoma

Segundo Michereff (2001), três etapas básicas devem ser consideradas em qualquer programa de obtenção e utilização de variedades resistentes: 1) Identificar fontes de resistência, ou seja, identificar no germoplasma genótipos que possuam genes de resistência; 2) Incorporar estes genes em cultivares comerciais por meio dos métodos de melhoramento; 3) Após a obtenção de um cultivar resistente, traçar a melhor estratégia para que a resistência seja durável face à natureza dinâmica das populações patogênicas.

Vários trabalhos voltados à resistência à pinta-preta e mancha-de-phoma têm sido desenvolvidos no programa de melhoramento do mamoeiro da UENF/Caliman dentre eles os de Vivas et al. (2010a), Vivas et al. (2010b), Vivas et al. (2011), Vivas et al. (2012a), Vivas et al. (2012b) Vivas et al. (2013a), Vivas et al. (2013b), Vivas et al. (2013c) Vivas et al. (2014), Vivas et al. (2015) e Poltronieri, et al. (2017).

Apesar da inexistência na cultura do mamoeiro de variedades resistentes a essa doença, no entanto, há relatos de variabilidade entre materiais do banco de germoplasma da UENF/CALIMAN e híbridos de mamoeiro para a resistência à mancha-de-phoma (Vivas et al., 2010a). Estes estudos apontaram genótipos promissores para a obtenção de cultivares como maiores níveis de resistência à mancha-de-phoma (Tabela 1).

Para ampliação da base genética do mamoeiro pode se utilizar variedades crioulas, Vivas et al. (2012b) avaliaram 24 progênies de mamoeiro oriundas de genótipos crioulos, cultivados por pequenos agricultores no sul do Estado do Espírito Santo quanto a características associadas à resistência à pinta-preta constatando que havia variabilidade genética suficiente para indicar a seleção recorrente como método de melhoramento. Segundo Vivas et al. (2014) quando avaliado o potencial genético de contribuição na resistência à mancha-de-phoma das 24 progênies, observou-se que STA-02 (2), STA-02 (5), STA-02 (6), STA-04 (5), STA-05 (5), STA-06 (6), STA-07 (5), STA-11 (5), STA-12 (1), STA-22 (3), STA-22 (4) e STA-23 (2) apresentaram-se como promissores, pois mostraram valores adequados tanto para incidência de folhas com sintoma de mancha-de-phoma quanto para severidade de mancha-de-phoma em folhas, considerando-se as

estimativas dos efeitos genéticos aditivos preditos, para incidência de folha com sintoma de mancha-de-phoma e severidade de mancha-de-phoma em folha de mamoeiro, para os 20 melhores indivíduos dentro de progênies e seus respectivos blocos.

Tabela 1. Médias de incidência e severidade de mancha-de-phoma em folhas de genótipos de mamoeiro pertencentes à coleção de germoplasma da UENF/CALIMAN, avaliadas por Viva et al. (2010a) Linhares ES, no ano de 2007.

Genótipos (Germoplasma)	Incidência		Severidade	
'Maradol'	30,876	E	0,842	B
'Maradol GL'	50,681	D	1,384	B
'Americano'	50,797	D	5,400	B
'Tailândia'	59,751	C	2,592	B
'Baixinho de Santa Amália'	61,244	C	4,450	B
'JS 12'	62,428	C	3,888	B
'Waimanalo'	62,941	C	6,363	B
'Sekati'	63,524	C	4,444	B

Acredita-se que a característica que confere resistência à mancha-de-phoma apresenta herança poligênica e genes agindo de forma independente (Vivas et al., 2013a). Os autores propõem ainda a possibilidade de se explorar heterose para maior durabilidade do tipo de resistência que se pretende buscar, mas ressaltam que isso não impede que a população do patógeno possa se adaptar ao novo genótipo ao longo do tempo, no caso de um plantio extenso e intensivo de um determinado híbrido. Assim, novos estudos deverão ser conduzidos no sentido de se estudar a herança da resistência dos híbridos mais promissores, bem como, a variabilidade do patógeno quanto à virulência, se encontrado efeito raça cultivar ou interação significativa entre genótipo isolado em estudos de inoculação sob condição controlada, novas combinações híbridas e outras fontes de resistência deverão integrar o programa de melhoramento. (Vivas et al., 2013a).

Em relação à herança da resistência do mamoeiro à pinta-preta, Vivas et al (2013c) observaram a existência de pelo menos um gene ou bloco gênico com dominância para severidade de pinta-preta em folha e fruto. Os efeitos gênicos aditivos e não aditivos foram igualmente importantes, tanto para severidade de

pinta-preta em folha quanto para severidade em fruto, constatando-se efeito de dominância completa para severidade de pinta-preta em folha e em fruto.

3. 2. 3 MATERIAL E MÉTODOS

3. 2.3.1 Instalação e localização do experimento

As avaliações das características morfoagronômicas, da incidência e severidade da pinta-preta e da mancha-de-phoma, foram realizadas na empresa Caliman Agrícola S.A, localizada no município de Linhares, no Estado do Espírito Santo. Sua localização geográfica está entre os paralelos 19° 06'-19° 18' de Latitude Sul e entre os meridianos 39° 45'-40° 19' Oeste.

Para isso, foram semeados 6 tratamentos (hermafrodita M3; progênie dioica M3; 'Golden' (testemunha de suscetibilidade); Maradol (testemunha para resistência); 'Calimosa' e SS-7212. Para avaliação dos tratamentos, foi utilizado um delineamento experimental em blocos casualizados com 10 repetições e duas plantas por parcela, totalizando 120 plantas distribuídas em um espaçamento de 3,6 m entre fileira e de 1,5 m entre plantas na fileira, totalizando 648 m². O esquema de plantio foi de três mudas por cova e após três meses do plantio realizou-se a sexagem nas parcelas, mantendo por cova uma planta hermafrodita ou uma feminina (para as variedades dioicas).

3. 2.3.2 Características morfoagronômicas

As 15 características morfoagronômicas avaliadas nesse estudo foram mensuradas em março e junho de 2017, na empresa Caliman Agrícola S.A, localizada no município de Linhares, no Estado do Espírito Santo.

A técnica de fenotipagem digital descrita por Cortes *et al.* (2017) auxiliou na obtenção das mensurações, na análise e avaliação das características morfoagronômicas: diâmetro do caule (DC), altura da planta (AP), altura da inserção do primeiro fruto (AIPF), o número de frutos comerciais (NFC), o número de frutos deformados (NFD), nós sem fruto (NSF), número de frutos totais (NFT), comprimento do fruto (CF), diâmetro do fruto (DF) e espessura da polpa (EP).

Para captura das imagens em campo foi utilizada uma câmera digital Sony DSCHX 300, utilizando duas fotografias completas por planta, as imagens obtidas no campo foram analisadas em laboratório com ajuda do *software* ImageJ v1.50c para mensuração das características avaliadas. Para facilitar a identificação das plantas no processo de análise e processamento das imagens cada planta foi identificada com uma etiqueta fixada no solo próximo a planta, contendo informações como repetição e tratamento e planta. Além disso, um cilindro contendo duas faixas de 20 cm, pintadas nas cores branca e preta, foi fixado no solo próximo ao caule das plantas avaliadas, essa escala de medida conhecida serviu de referência para o *software*, indicando que naquela distância, em pixel, existe uma distância de 20 cm possibilitando a realização das mensurações de qualquer parte da planta.

Foram analisadas em cada planta as características: DC, AP, AIPF, NFC, NFD, NSF e NFT mensuradas em programa via imagem digital, utilizando o *Software* ImageJ. Para cada parcela foram colhidos cinco frutos. Cada fruto avaliado foi cortado em duas faces iguais, no sentido transversal, uma face foi utilizada para análise das características avaliadas manualmente (FP, FF, PMF e TSS) e a outra face do fruto foi scaneada em um scanner modelo BENQ 5000 para captura da imagem e a partir desta obter as mensurações digitais (CF, DF e EP).

O PMF foi mensurado com o auxílio de balança analítica e expressa em gramas; a produção (PROD) foi obtida pela multiplicação do NFC pelo PMF (na progênie dioica M3 não foram computados frutos femininos, por não atenderem o padrão de formato de fruto comercialmente aceitos); teor de sólidos solúveis (TSS) obtido de uma amostra da polpa da região mediana de cinco frutos na parcela por meio de suco extraído por prensa, utilizando um refratômetro portátil Atago N1. Para análise da firmeza do fruto (FF) e firmeza da polpa (FP) foi avaliada a resistência à penetração, utilizando-se de um Penetrômetro digital de Bancada (*Fruit Pressure Tester*, Italy, Modelo 53205) com adaptador de 3,0 x 3,0 cm (altura x diâmetro). Para a FF foram realizadas perfurações em três pontos equidistantes na região equatorial de cinco frutos na parcela e a FP foi mensurada a partir da perfuração de três pontos equidistantes na polpa de cinco frutos da parcela. O CF e DF foram mensurados através dos parâmetros major e minor fornecidos pelo *software* ImageJ v1.50c. Já a EP foi obtida através da média de dois pontos na polpa de cinco frutos, via imagem digital.

3. 2.3.3 Avaliações relativas à ocorrência de doenças

Foram realizadas três avaliações da incidência da mancha-de-phoma em folhas (IMPFO), severidade da mancha-de-phoma em folhas (SMPFO), incidência de pinta-preta em folhas (IPPFO) e incidência pinta-preta em frutos (IPPFRR), sendo a primeira no dia 30 de março, a segunda dia 20 de junho e a terceira no dia 20 de setembro de 2017. Os dados da incidência de folhas com sintomas da mancha-de-phoma e pinta-preta foram obtidos em porcentagem pela relação entre o número de folhas com sintomas pelo número total de folhas.

A severidade da mancha-de-phoma em folhas (SMPFO) de mamoeiro foi estimada, utilizando escala diagramática adotada por Vivas et al. (2010a), avaliando a folha disposta imediatamente abaixo da folha com a primeira flor aberta. Já a severidade de pinta-preta em folha (SPPFO), foi avaliada na folha com a primeira flor aberta, estimada com auxílio de escala diagramática adotada por Vivas et al. (2011).

A severidade de pinta-preta no fruto (SPPFR) foi obtida com auxílio de escala diagramática proposta por Vivas et al. (2010b) avaliada no fruto em estágio zero de maturação, seguindo a escala de cores FrutiSéries (2000).

3. 2.3.4 Análise Estatística das características morfoagronômicas e de resistência

Para avaliação das características morfoagronômicas e de resistência à pinta-preta e mancha-de-phoma foram realizadas análises de Variância utilizando-se o Programa GENES (Cruz, 2013) e testes de comparação de médias dos genótipos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3. 2.3.4.1 Análise de Variância

3. 2.3.4.2 Análise de Variância das características morfoagronômicas

Para avaliação das características morfoagronômicas foi realizada análise de variância conjunta considerando a média e somatório das épocas, obedecendo ao seguinte modelo estatístico em blocos casualizados:

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + b_j + \varepsilon_{ij}$$

Onde; Y_{ijk} é o valor observado, referente a k-ésima planta do i-ésimo genótipo na j-ésima repetição; μ = constante geral; t_i = o efeito fixo do i-ésimo genótipo; b_j = o efeito da j-ésima repetição; ε_{ij} = o erro experimental associado à observação.

Apenas as características NFD, NFC, NSF e PROD foram submetidas a uma transformação do tipo $\sqrt{x+0,5}$ para atender os pressupostos da normalidade dos dados.

3. 2.3.4.3 Análise de Variância das características de resistência

Inicialmente foram realizadas análises de variância conjuntas segundo o modelo estatístico descrito abaixo:

$$Y_{ijk} = \mu + \pi_i + B_j + (\pi B)_{ij} + Y_k + (By)_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

Onde, y_{ijk} = valor observado na subparcela k, da parcela j e repetição i; μ = média geral; π_i = blocos (A); B_j = fator da parcela principal (B); $(\pi B)_{ij}$ = erro da parcela principal – E(A); Y_k = fator da subparcela (C); $(By)_{jk}$ = interação BxC; ε_{ijk} = erro da subparcela – E(B).

Quando constatado efeito significativo para a interação genótipo x época conduziu-se as análises individuais para cada época. As análises de variância individuais foram efetuadas, obedecendo ao modelo para blocos casualizados utilizado na avaliação das características morfoagrômicas conforme descrito anteriormente. Todas as características foram submetidas a uma transformação do tipo $\sqrt{x+0,5}$ para prosseguir com a análise de variância.

3.2.3.5 Estimação dos parâmetros genéticos e experimentais

Foram estimados os parâmetros genéticos para cada uma das características.

Coeficiente de variação experimental:

$$CV_e (\%) = \left(\frac{100\sqrt{\sigma^2}}{\bar{X}} \right)$$

Coeficiente de variação genético:

$$CV_g (\%) = \left(\frac{100\sqrt{\theta_g^2}}{\bar{X}} \right)$$

Coeficiente de determinação genotípico:

$$H^2 = \left(\frac{\theta_g^2}{\sigma_f^2} \right)$$

Índice de variação:

$$IV_g (\%) = \left(\frac{cv_g}{cv_e} \right) \times 100$$

3.2.3.6 Estimação da diversidade genética

Foi estimada a distância de Mahalanobis a partir das características morfoagronômicas (AIPF, AP, DC, NFT, NFD, NFC, NSF, PROD, PMF, CF, DF, FF, FP, EP e TSS), das características relacionadas à resistência a doenças (SPPFR, IPPF, SPPFO, IPPFO, SMPFO e IMPFO) e todas as características em conjunto. Posteriormente, foi realizado o agrupamento dos genótipos pelo método *Unweighted Pair-Group Method Using an Arithmetic Average* (UPGMA). A consistência dos agrupamentos foi determinada pelo coeficiente de correlação cofenética (CCC), o valor da correlação entre as duas matrizes foi testado pela aplicação do teste de aleatorização de Mantel (1967) com 1000 reamostragens, considerando o nível de 5% de significância. As análises foram realizadas utilizando-se os *softwares* Genes (Cruz, 2013) e R (Development Core Team, 2011).

Os genótipos foram avaliados quanto à diversidade genética para verificar o agrupamento em relação às características morfoagronômicas, à incidência e severidade de pinta-preta e mancha-de-phoma e quanto às características morfoagronômicas e doenças em conjunto.

3. 2.4 RESULTADOS

3. 2.4.1 Variáveis morfoagronômicas

3. 2.4.1.2 Análise de Variância e parâmetros genéticos

Houve diferença significativa pelo teste F ao nível de 1% de probabilidade para os genótipos em todas as 15 variáveis avaliadas, indicando existência de variabilidade genética entre os indivíduos (Tabela 2).

O coeficiente de variação experimental (CVe), para a maioria das características, situou-se abaixo de 20%, indicando boa precisão experimental (Tabela 2).

Quanto ao índice de variação (Tabela 2), dez das 15 características avaliadas apresentaram IV maior do que a unidade (AP, NFD, NFC, NSF, PROD, PMF, CF, DF, FF e EP) três próximos à unidade (DC, NFT e TSS) e duas características apresentaram IV inferior à unidade (AIPF e FP).

Em relação ao coeficiente de determinação genotípico (H^2), todas as características apresentaram valores superiores a 80%, exceto as características AIPF e FP com coeficiente de determinação genotípico igual a 74,18% e 76,32% respectivamente (Tabela2).

Tabela 2. Resumo da análise de variância conjunta para 15 características morfoagronômicas avaliadas em seis genótipos de *C. papaya*. Valores dos quadrados médios dos tratamentos e suas respectivas significâncias, médias, coeficiente de variação experimental, coeficiente de variação genético, índice de variação e coeficiente de determinação genotípico. Linhares, ES, 2017.

FV	GL	Quadrados médios							
		AIPF	AP	DC	NFT ¹	NFD ¹	NFC ¹	NSF	PROD ¹
Blocos	9	1797,65	2090,21	18,61	3,97	1,05	4,33	164,92	4,65
Tratamentos	5	899,00**	4799,74**	10,58**	23,47**	8,47**	94,99**	200,94**	88,64**
Resíduo	45	232,09	355,85	1,01	2,16	0,51	1,55	15,92	2,13
Média		87,79	205,77	11,27	7,62	2,65	6,12	22,29	5,48
CV _e		17,35	9,17	8,92	19,31	27,20	19,95	17,90	26,62
CV _g		9,30	10,24	8,68	19,16	33,68	48,99	19,30	53,66
IV		0,54	1,12	0,97	0,99	1,24	2,46	1,08	2,01
H ²		74,18	92,59	90,44	90,78	93,88	98,37	92,07	97,60

AIPF: altura de inserção do primeiro fruto (cm).; AP: altura da planta (cm).; DC: diâmetro do caule (mm).; NFT: número de frutos totais (un).; NFD: número de frutos deformados (un).; NFC: número de frutos comerciais (un).; NSF: nós sem fruto (un).; PROD: produção (kg/planta).; ** Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.; (1) NFT, (1) NFD, (1) NFC e PROD: $\sqrt{(x+0,5)}$.; CV_e: coeficiente de variação experimental.; CV_g: coeficiente de variação genético.; IV: Índice de variação.; H²: coeficiente de determinação genotípico.

Tabela 2. Cont.

FV	GL	Quadrados médios						
		PMF	CF	DF	FF	FP	EP	SST
Blocos	9	412935,52	13,95	1,77	468,46	270,51	0,51	2,13
Tratamentos	5	6392829,59**	416,15**	36,49**	923,6144**	789,07**	3,80**	5,84**
Resíduo	45	70402,01	2,59	0,26	26,76	186,85	0,16	0,61
Média		1059,23	17,75	9,41	116,67	92,82	3,29	9,59
CV _e (%)		25,05	9,08	5,52	4,43	14,73	12,18	8,15
CV _g		75,07	36,23	20,23	8,12	8,36	18,36	7,54
IV		3,00	3,99	3,67	1,83	0,57	1,51	0,93
H ²		98,90	99,38	99,26	97,10	76,32	95,78	89,54

PMF: peso médio 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); SST: teor de sólidos solúveis (°Brix); ** : Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.; CV_e: coeficiente de variação experimental.; CV_g: coeficiente de variação genético.; IV: Índice de variação.; H²: coeficiente de determinação genotípico.

3. 2.4.1.3 Comparações de médias

Considerando as características (NFC, PMF, PROD, FF, FP e TSS) de produtividade e qualidade de frutos, portanto, de enorme importância para a cultura, pode ser observado na tabela 3, que o genótipo hermafrodita M3 apresentou NFC superior ao híbrido Calimosa e inferior às testemunhas 'Golden' e Sunrise solo 72/12, contudo, não diferiu estatisticamente desses genótipos.

Em relação ao PMF, o genótipo hermafrodita M3 foi estatisticamente igual ao genótipo Calimosa e a progênie dioica M3, apresentando superioridade em relação às testemunhas 'Golden' e Sunrise solo 72/12.

Tabela 3. Médias para seis características de maior importância econômica, avaliadas em seis genótipos de mamoeiro, com suas respectivas diferenças mínimas significativas (DMS), Linhares, ES, 2017.

Tratamentos	Tipo de população	Características					
		NFC	PMF	PROD	FF	FP	TSS
'Golden'	S _n	71,93a	358,41c	25,50bc	102,26c	79,03b	9,51a
Calimosa	F ₁	42,19bc	1181,36b	48,98ab	121,72ab	97,77a	10,36a
Progênie dioica M3	S ₀	0d	846,34b	0c	128,42a	101,55a	10,19a
Maradol	S _n	28,09c	2517,31a	65,24a	118,31b	95,04ab	8,24b
Hermafrodita M3	F ₂	60,93ab	1111,27b	67,25a	120,99ab	98,70a	9,38a
Sunrise solo 72/12	S _n	85,97a	340,68c	28,91bc	108,34c	84,82ab	9,88a
Média		48,18	1059,23	31,89	116,67	92,82	9,59
DMS (t=0,05)		29,05	352,96	28,98	6,88	18,18	1,04

NFC: número de frutos comerciais (un.); PMF: peso médio de frutos (g); PROD: produção por planta (kg); FF: Firmeza do fruto (N); FP: firmeza da polpa (N); TSS: teor de sólidos solúveis. *Na mesma coluna, médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Em termos de produção, o genótipo hermafrodita M3 não diferiu do Calimosa e do Maradol compondo o grupo mais produtivo. Para a FF, o genótipo hermafrodita M3 apresentou desempenho semelhante ao Calimosa, Progênie dioica M3 e Maradol. Quanto a FP o genótipo hermafrodita M3 diferiu estatisticamente apenas da testemunha 'Golden' que apresentou o menor valor de firmeza da polpa. Verifica-se que o genótipo hermafrodita M3 apresentou superioridade em relação às testemunhas 'Golden' e Sunrise solo 72/12 quanto a FP, FF, PMF e PROD e ao Calimosa para PROD e FP.

Com relação ao teor de sólidos solúveis, cinco genótipos não diferiram significativamente quanto a este caráter, com valores entre 9,38 e 10,36 °Brix, enquanto o genótipo Maradol apresentou a menor média (8.24 °Brix).

3. 2.4.2 Variáveis de incidência e severidade de pinta-preta em frutos e folhas e incidência e severidade de mancha-de-phoma em folhas

3. 2.4.2.1 Análise de Variância e dos parâmetros genéticos e experimentais

Foi constatado na análise de variância conjunta efeito significativo para a interação genótipo x época, por isso foram realizadas as análises individuais para cada época.

Na primeira época (avaliações realizadas em março), houve diferença significativa pelo teste F ao nível de 1% de probabilidade para os genótipos em todas as seis variáveis avaliadas. Na segunda época (avaliações realizadas em junho), houve diferença significativa pelo teste F ao nível de 1% para as características SPPFR, IPPFR, SPPFO e SMPFO e diferença significativa pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade para IPPFO. Para a IMPFO não foi apresentada diferença significativa entre os genótipos. Já na terceira época (setembro), apenas a IPPFO não apresentou diferença significativa entre os genótipos. As demais características foram significativas pelo teste F ao nível de 1% de probabilidade (Tabela 4).

O coeficiente de variação experimental (C_{Ve}) para a maioria das características situou-se abaixo de 20%, indicando boa precisão experimental (Tabela 4). Considerando as estimativas do coeficiente de determinação genotípico e o índice de variação (Tabela 4), observa-se o primeiro variando de 39,73 (IMPFO) a 96,05 (IPPFO), enquanto que o segundo variou de 0,26 (IMPFO) a 1,56 (IPPFO).

Tabela 4. Resumo da análise de variância para as características SPPFR, IPPFR, SPPFO, IPPFO, SMPFO e IMPFO avaliadas em seis genótipos de *C. papaya* em março, junho e setembro, Linhares, ES, 2017.

		Quadrados médios					
		Época 1 (Março)					
FV	GL	SPPFR	IPPFR	SPPFO	IPPFO	SMPFO	IMPFO
Blocos	9	0,0015	5,4494	0,0029	3,7460	13,4079	5,6772
Tratamentos	5	0,0039**	12,1156**	0,0070**	3,3347**	14,7327**	6,4415**
Resíduo	45	0,0003	1,5884	0,0014	0,1318	1,0698	0,3231
Média		0,72	2,42	0,75	4,84	2,65	7,35
CV _e (%)		2,28	52,04	4,99	7,50	39,09	7,74
CV _g		2,63	42,37	3,19	11,70	44,18	10,65
I _v		1,15	0,81	0,64	1,56	1,13	1,38
H ²		92,98	86,89	80,31	96,05	92,74	94,98
		Época 2 (Junho)					
FV	GL	SPPFR	IPPFR	SPPFO	IPPFO	SMPFO	IMPFO
Blocos	9	1,1751	1,3998	0,0143	0,3931	0,2999	0,1966
Tratamentos	5	3,1527**	16,4005**	0,0361**	0,2186*	1,7310**	0,1860 ^{ns}
Resíduo	45	0,2196	0,6565	0,0035	0,0891	0,0884	0,1121
Média		1,26	5,07	0,81	9,77	1,87	9,65
CV _e (%)		37,19	15,98	7,32	3,06	15,91	3,47
CV _g		42,97	24,74	7,09	1,16	21,69	0,89
I _v		1,16	1,55	0,97	0,38	1,36	0,26
H ²		93,03	96,00	90,35	59,24	94,89	39,73
		Época 3 (Setembro)					
FV	GL	SPPFR	IPPFR	SPPFO	IPPFO	SMPFO	IMPFO
Blocos	9	0,9438	0,3617	0,0314	0,0371	0,5065	0,1428
Tratamentos	5	1,5325**	0,3352**	0,0801**	0,1372 ^{ns}	1,5613**	0,2180**
Resíduo	45	0,1135	0,1237	0,0115	0,0634	0,0801	0,0569
Média		1,65	9,54	0,88	9,50	1,59	9,46
CV _e (%)		20,38	3,69	12,15	2,65	17,83	2,52
CV _g		22,78	1,52	9,37	0,90	24,23	1,34
I _v		1,12	0,41	0,77	0,34	1,36	0,53
H ²		92,59	63,09	85,60	53,78	94,87	73,91

SPPFR: Severidade de pinta-preta no fruto.; IPPFR: Incidência de pinta-preta no fruto.; SPPFO: Severidade de pinta-preta na folha.; IPPFO: Incidência de pinta-preta na folha.; SMPFO: Severidade de mancha-de-phoma na folha.; IMPFO: Incidência de mancha-de-phoma na folha.; ** e *: Significativo a 1% e 5% de probabilidade respectivamente, pelo teste F.; ns: não significativo.; CV_e: coeficiente de variação experimental.; CV_g: coeficiente de variação genético.; IV: Índice de variação.; H²: coeficiente de determinação genotípico.

3. 2.4.2.2 Comparações de médias

As médias dos seis genótipos de mamoeiro para as características, SPPFR, IPPFR, SPPFO, IPPFO, SMPFO e IMPFO foram comparadas pelo teste de Tukey, a 0,05 de probabilidade para as três épocas de avaliação (Tabela 5).

Tabela 5. Incidência de pinta-preta (%), severidade de pinta-preta (%), incidência de mancha-de-phoma (%), severidade de mancha-de-phoma (%), em seis genótipos de mamoeiro pertencentes ao banco de germoplasma da UENF/CALIMAN, avaliadas em Linhares ES, no ano de 2017.

Tratamentos	Características/Época					
	Época 1 (Março)					
	SPPFR	IPPFR	SPPFO	IPPFO	SMPFO	IMPFO
'Golden'	0,71 b	1,44 b	0,79 a	5,23 a	2,87 a	7,60 abc
Calimosa	0,72 b	2,18 ab	0,73 b	4,60 b	3,60 a	8,28 a
Prog. dioica M3	0,71 b	2,52 ab	0,74 b	5,57 a	0,96 b	7,04 c
Maradol	0,75 a	3,64 a	0,72 b	4,14 b	1,43 b	5,98 d
Hermafrodita M3	0,75 a	3,68 a	0,76 ab	4,29 b	2,96 a	7,27 bc
Sunrise	0,71 b	1,03 b	0,73 b	5,19 a	4,05 a	7,91 ab
Média	0,73	2,42	0,75	4,84	2,65	7,35
DMS _(t=0,05)	0,02	1,68	0,05	0,48	1,37	0,76
	Época 2 (Junho)					
	SPPFR	IPPFR	SPPFO	IPPFO	SMPFO	IMPFO
'Golden'	0,75 c	3,02 c	0,92 a	9,88 a	2,43 a	9,75 a
Calimosa	1,56 ab	4,51 b	0,78 bc	9,50 a	1,68 b	9,41 a
Prog. dioica M3	2,16 a	6,50 a	0,74 c	9,75 a	2,36 a	9,63 a
Maradol	0,94 bc	5,96 a	0,77 bc	9,89 a	1,48 b	9,75 a
Hermafrodita M3	1,42 b	5,84 a	0,80 bc	9,74 a	1,67 b	9,61 a
Sunrise	0,72 c	4,58 b	0,82 b	9,86 a	1,58 b	9,76 a
Média	1,26	5,07	0,81	9,77	1,87	9,65
DMS _(t=0,05)	0,62	1,08	0,08	0,40	0,39	0,44
	Época 3 (Setembro)					
	SPPFR	IPPFR	SPPFO	IPPFO	SMPFO	IMPFO
'Golden'	1,55 bc	9,34 b	1,05 a	9,43 a	2,19 a	9,48 ab
Calimosa	1,62 bc	9,45 ab	0,83 b	9,49 a	1,48 bc	9,52 a
Prog. dioica M3	2,38 a	9,87 a	0,87 b	9,61 a	1,29 bc	9,61 a
Maradol	1,23 c	9,52 ab	0,79 b	9,68 a	1,13 c	9,48 ab
Hermafrodita M3	1,69 b	9,46 ab	0,88 b	9,38 a	1,91 a	9,17 b
Sunrise	1,45 bc	9,61 ab	0,87 b	9,44 a	1,51 b	9,50 a
Média	1,65	9,54	0,88	9,51	1,59	9,46
DMS _(t=0,05)	0,45	0,47	0,14	0,33	0,38	0,32

SPPFR: Severidade de pinta-preta no fruto; IPPFR: Incidência de pinta-preta no fruto; SPPFO: Severidade de pinta-preta na folha; IPPFO: Incidência de pinta-preta na folha; SMPFO: Severidade de mancha-de-phoma na folha; IMPFO: Incidência de mancha-de-phoma na folha.*Na mesma coluna, médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey em nível de 5% de probabilidade. Dados originais foram transformados de acordo com a fórmula: $\sqrt{(x+0,5)}$.

Considerando a avaliação da pinta-preta em fruto, observou-se que, tanto para a incidência quanto para a severidade houve a formação de dois grupos estatisticamente diferentes na época 1 e três grupos na época 2 enquanto na época 3 houve a formação de três grupos para severidade e dois grupos para incidência (Tabela 5). O genótipo 'Golden' foi alocado no grupo com menores valores nas três épocas e o genótipo Maradol apresentou a menor média apenas na terceira avaliação. Para pinta-preta e mancha-de-phoma em folha, o genótipo 'Golden' se alocou no grupo com maiores valores, tanto para incidência quanto para severidade nas três épocas avaliadas.

Na primeira época avaliada (Tabela 5), o hermafrodita M3 ficou alocado no grupo com maiores valores para a SPPFR, IPPFR e SMPFO, no entanto, o Maradol também se alocou neste grupo exceto para a SMPFO. Para a SPPFO não houve diferença estatística do genótipo hermafrodita M3, tanto para testemunha de resistência (Maradol) quanto para testemunha de suscetibilidade ('Golden'). Os menores valores de IPPFO foram apresentados pelos genótipos Calimosa, Maradol e Hermafrodita M3. Em relação a IMPFO, os genótipos progênie dioica M3 e Maradol apresentaram menores valores, porém o hermafrodita M3 não diferiu da progênie dioica.

Para segunda época de avaliação (Tabela 5), não houve diferença significativa entre os genótipos quanto às características IPPFO e IMPFO. Porém, apesar de fazerem parte do mesmo grupo (não diferindo estatisticamente), os genótipos hermafroditas M3 e Calimosa apresentaram as menores médias. O genótipo hermafrodita M3 ficou alocado no grupo com menores valores para a severidade tanto para pinta-preta como para mancha-de-phoma.

Na terceira época (Tabela 5), o genótipo hermafrodita M3 se alocou no mesmo grupo da testemunha de resistência (o genótipo Maradol) para as características IPPFR, SPPFO e IMPFO. Já a característica IPPFO não apresentou significância entre os genótipos.

3. 2.4.3 Diversidade genética

Na análise de diversidade genética com base nas características morfoagronômicas constatou-se a formação de dois grupos: o grupo I composto pelos genótipos 'Golden' e Sunrise solo 72/12 e o grupo II pelos genótipos Calimosa, Hermafrodita M3, Maradol e progênie dioica M3 (Figura 5).

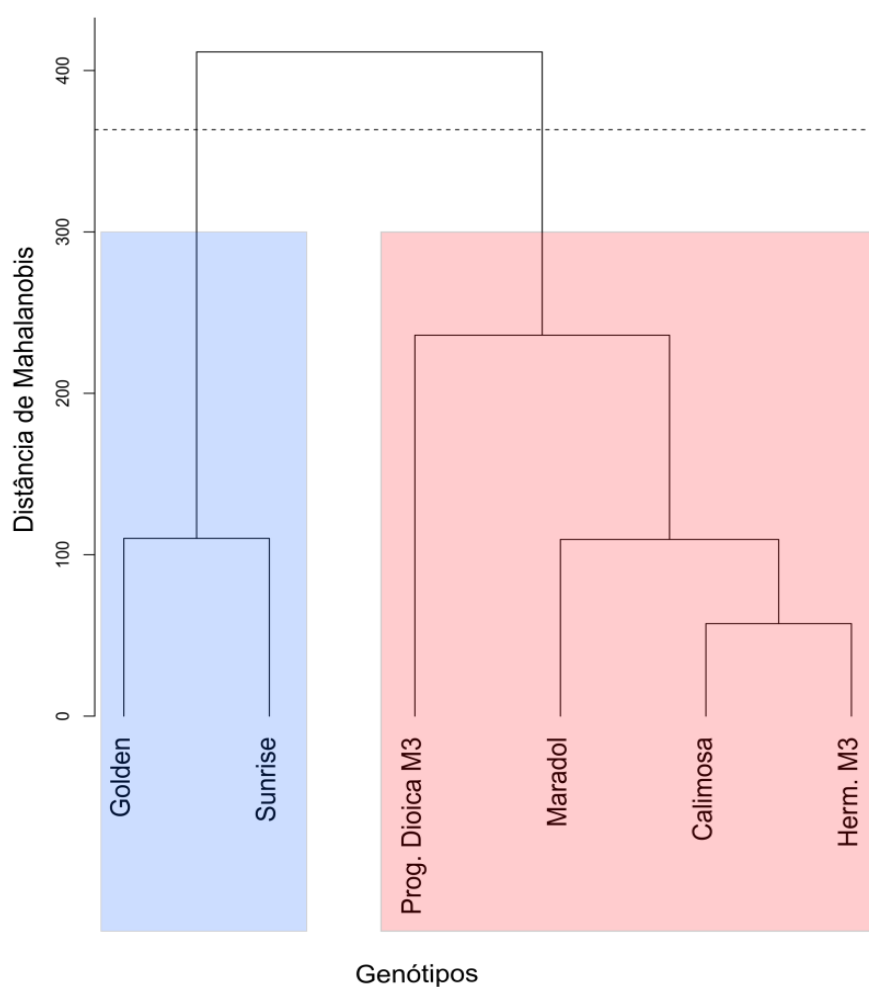


Figura 5: Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir da distância de Mahalanobis entre 6 genótipos de mamoeiro caracterizados por 15 características morfoagronômicas. CCC: 0.79; D:11.61 %; E: 34.08%.

Quanto ao agrupamento a partir da incidência e severidade de pinta-preta em folha e frutos e mancha-de-phoma em folhas para as três épocas em conjunto, houve a formação de dois grupos (Figura 6) a progênie dioica M3 alocou-se no grupo I e os genótipos 'Golden', Sunrise solo 72/12, Calimosa, Hermafrodita M3 e Maradol compuseram o grupo II. No entanto, considerando a mudança abrupta o grupo II pode ser subdividido em dois subgrupos. O subgrupo I formado pelos genótipos 'Golden' e Sunrise solo 72/12 e o subgrupo II pelos genótipos Calimosa, Hermafrodita M3 e Maradol.

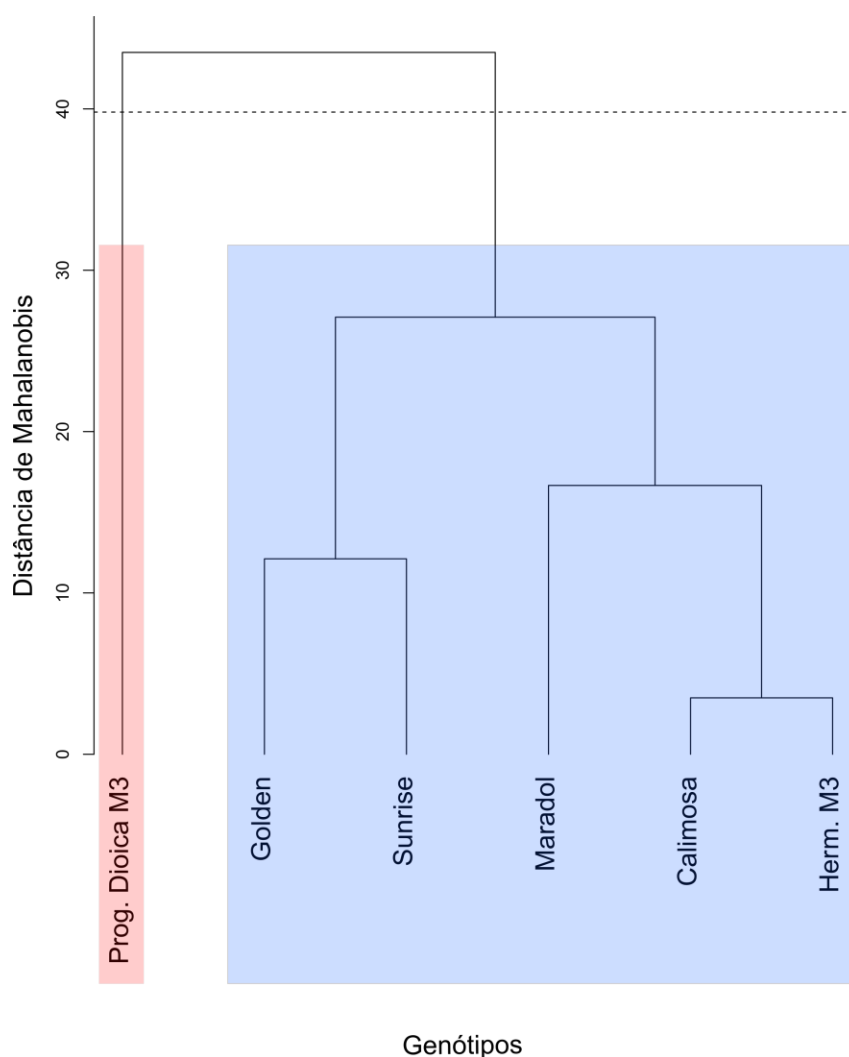


Figura 6. Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir da distância de Mahalanobis entre 6 genótipos de mamoeiro para as características de incidência e severidade de pinta-preta e mancha-de-phoma para as 3 épocas de avaliação em conjunto. CCC: 0.69; D: 14.66 %; E: 38.29 %.

Em relação às características morfoagronômicas e de doenças em conjunto foi obtido o agrupamento apresentado na figura 7. O grupo I formado pelos genótipos 'Golden' e Sunrise solo 72/12 já o grupo II reuniu os genótipos Calimosa, Hermafrodita M3, Maradol e Progênie dioica.

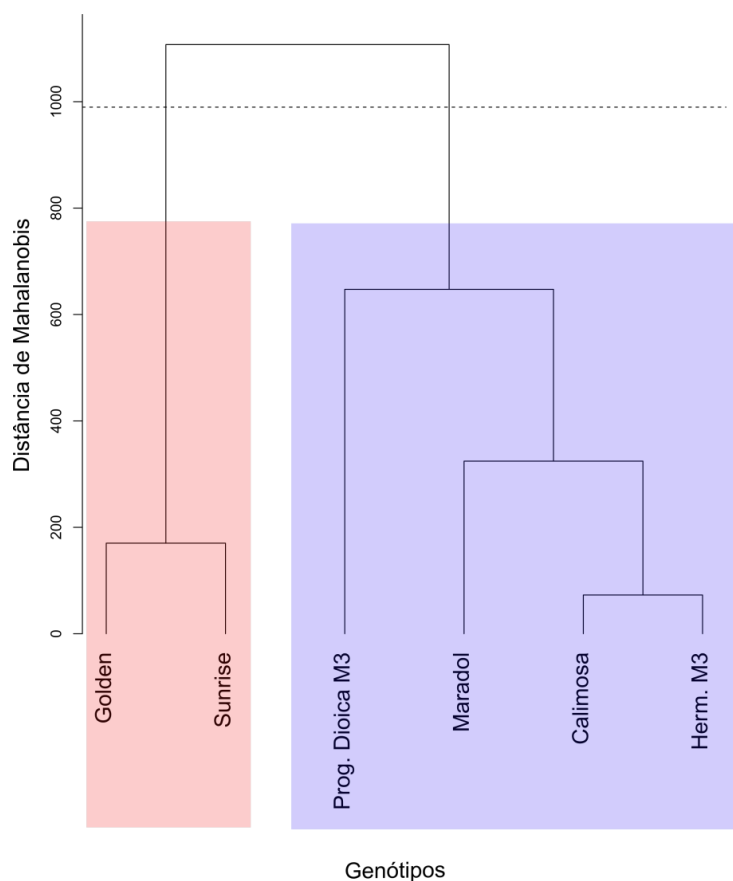


Figura 7. Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir da distância de Mahalanobis entre 6 genótipos de mamoeiro a partir das características morfoagronômicas e de doenças em conjunto. CCC: 0.75; D:14.15%; E: 37.62%.

3. 2.5 DISCUSSÃO

As características NFD (27,20), PROD (50,70) e PMF (25,05) apresentaram valores elevados de CV_e . Estes resultados são devido à grande variação destas características entre as épocas avaliadas e principalmente por serem bastante influenciados pelo ambiente (Barros, 2015). Resultados semelhantes foram observados na análise de características morfoagronômicas do mamoeiro (Silva et al., 2008a; Silva et al., 2008b; Santa-Catarina, 2016) onde os autores encontraram

estimativas de CV_e de baixas a muito altas. Barros (2015) avaliando híbridos de mamoeiro encontrou valores elevados para NSF, NFC, NFD e PROD.

Analisando o CV_g juntamente com o CV_e , por meio do índice de variação (lv), tem-se uma ideia real da situação de cada característica (Faleiro et al., 2008). Valores de lv maior que a unidade, indicam ampla variabilidade (Vencovsky, 1987). Sendo assim, a situação é favorável à seleção para 66% das variáveis (AP, NFD, NFC, NSF, PROD, PMF, CF, DF, FF e EP) avaliadas, resultado superior aos relatados por Dias et al. (2011) que ao avaliarem 27 genótipos de mamoeiro entre cultivares, variedades melhoradas, variedades locais e linhagens, encontraram 63% das características avaliadas apresentando valor de lv maiores que a unidade, para características que influenciam diretamente a produção no mamoeiro.

A maioria das características apresentaram valores elevados de H^2 , indicando uma grande chance de ganhos genéticos nos procedimentos de seleção. Sabe-se que o coeficiente de determinação genotípico (H^2) não é o coeficiente de herdabilidade (h^2), no entanto, alto valores (acima de 80%) refletem a expectativa de altos ganhos genéticos no procedimento de seleção (Silva, et al., 2008b). Silva et al. (2008a), avaliando populações segregantes de mamoeiro, obtiveram H^2 variando entre 53% e 99,45% em diversas características morfoagronômicas. Santa-Catarina, (2016) observaram H^2 de 65,35% para a característica produção e 97,88% para comprimento do fruto.

Os genótipos Maradol, progênie dioica M3 e Calimosa são caracterizados por produzirem frutos maiores e por isso o número desses por planta foi menor e conseqüentemente o NFC foi menor para esses genótipos. Por outro lado, os tratamentos (Sunrise solo 72/12 e 'Golden') nos quais as plantas produzem frutos menores apresentaram maiores médias para o número de frutos comerciais, pois apresentam um número maior de frutos por planta. Na progênie dioica M3 não foram computados frutos femininos, justificando-se a média zero para o número de frutos comerciais e a produção nesse genótipo.

As variedades de mamoeiro mais cultivadas pertencem ao grupo Solo, o qual apresentam frutos preferidos para exportação, por exibirem polpa avermelhada e tamanho pequeno, com peso entre 300 e 650 g e ao grupo Formosa de frutos com polpa laranja-avermelhada e tamanho médio (1.000 a 1.300 g) (Dias et al., 2011). Dessa forma, seguindo o esperado, (já que os genótipos comparados são de grupos heteróticos distintos) o genótipo Maradol do grupo Formosa destacou-se

dos demais genótipos em relação ao PMF por apresentar frutos grandes e, logo, mais pesados. O genótipo hermafrodita M3 foi estatisticamente semelhante ao genótipo Calimosa e a progênie dioica. Vale ressaltar que esses genótipos exibem frutos intermediários, enquanto os genótipos do grupo solo ('Golden' e Sunrise solo 72/12) apresentaram as menores médias o que era esperado. Quintal et al. (2012) também encontraram os maiores pesos, comprimentos dos frutos, espessura da polpa e produtividade em grupos formados por acessos de Maradol.

A firmeza é um dos principais atributos na avaliação da qualidade do mamão, pois frutos com pouca firmeza apresentam menor resistência ao transporte, armazenamento e manuseio (Fagundes e Yamanishi, 2001). O genótipo hermafrodita M3 apresentou boa firmeza tanto para o fruto quanto para a polpa, com valores próximos ao apresentado pelo híbrido Calimosa, testemunha agronomicamente superior. Com relação ao teor de sólidos solúveis o genótipo Maradol apresentou a menor média (8,24). Basulto et al. (2009) encontraram valores inferiores (5,8) para o Brix^o em frutos verdes do genótipo Maradol e valores superiores (9,8) em frutos que foram colhidos quando a casca mostrou a mudança de verde intenso para verde claro com uma faixa amarela (estádio 1 de maturação).

Comparando o genótipo hermafrodita M3 com as testemunhas hermafroditas superiores agronomicamente, o genótipo hermafrodita M3 apresentou valores próximos ou semelhantes ao das testemunhas para as características (NFC, PMF, PROD, FF, FP e TSS). Cabe ressaltar que o hermafrodita M3 não diferiu estatisticamente do genótipo Calimosa para nenhuma das características, o que nos permite inferir que ele possui bons atributos agrônômicos.

Como avaliar o desempenho do genótipo hermafrodita M3 em relação à resistência a pinta-preta e mancha-de-phoma foi o objetivo principal deste capítulo, justifica-se o emprego da análise de variância conjunta considerando as três épocas de avaliação (março, junho e setembro), para verificar interação genótipo x época. A análise conjunta realizada para as características de doenças apresentou significância para interação genótipo x época prosseguindo-se com as análises individuais para cada época avaliada. Vivas et al. (2013a) também identificaram efeito na interação genótipo x época, ao proceder com análises separadas para cada época de avaliação, observando efeito significativo da fonte de variação genótipo para as duas épocas de avaliação.

Considerando as análises individuais das três épocas, constatou-se efeito significativo de genótipo para SPPFR IPPFR, SPPFO e SMPFO (Tabela 5). Nota-se que em junho de 2017, ocorreu efeito significativo de genótipo para as variáveis SPPFR IPPFR, SPPFO, IPPFO e SMPFO, porém não houve efeito significativo para a incidência de mancha-de-phoma na folha (Tabela 5). Já em setembro de 2017, ocorreu efeito significativo de genótipo para as variáveis SPPFR IPPFR, SPPFO, SMPFO e IMPFO, no entanto, não houve efeito significativo para a incidência de pinta-preta na folha (Tabela 5).

O controle químico efetuado e as condições de baixa pluviosidade (Figura 8) observada no período que antecede a avaliação podem ser fatores que mascararam o efeito dos genótipos para estas doenças em junho/setembro de 2017, uma vez que trabalhos anteriores relatam efeito de genótipo quanto à resistência à pinta-preta (Santos e Barreto, 2003; Dianese et al., 2007) e mancha-de-phoma (Vivas et al., 2013a). Nesse caso recomenda-se a avaliação desses materiais sobre outras condições ambientais, já que existem relatos de variabilidade genética no mamoeiro.

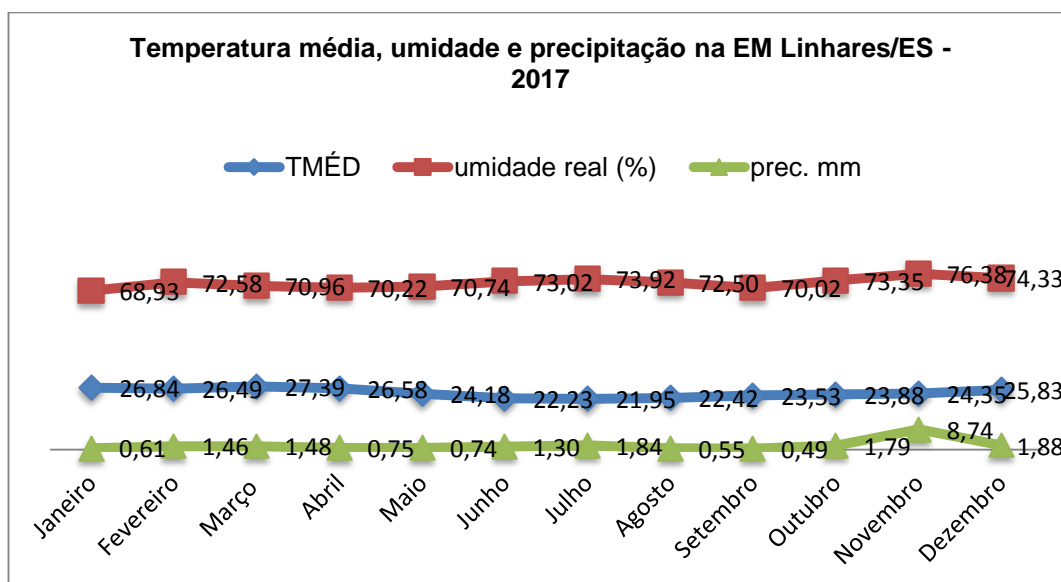


Figura 8. Condições climatológicas (temperatura média, umidade e precipitação) na estação meteorológica de Linhares - ES durante o ano de 2017. Elaborado pela autora a partir de dados fornecidos pelo Incaper.

As seis características avaliadas apresentaram I_v superiores, próximos e inferiores à unidade variando entre as épocas. Quanto ao coeficiente de determinação genotípico (H^2), a maioria das características apresentaram valores

superiores a 80%, exceção para as características IPPFR (setembro), IPPFO e IMPFO (junho/setembro) (Tabela 5).

Os maiores valores de índice de variação e coeficiente de variação genotípico foram obtidos para a característica severidade em folhas associadas à resistência à mancha-de-phoma. Outra característica que apresentou maiores valores de H^2 foi a severidade de pinta-preta no fruto, principalmente na época 2, ocasião em que este atingiu 93,03 %, com índice de variação de 1,16. A maioria das características (IPPFR, IPPFO, SPPFO, IMPFO) apresentaram na terceira época de avaliação baixos valores de índice de variação situando-se abaixo da unidade.

A partir das comparações de médias verifica-se que, de modo geral, houve uma tendência de o genótipo 'Golden' apresentar resistência para incidência e severidade de pinta-preta no fruto e suscetibilidade em folhas tanto para incidência e severidade de pinta-preta quanto para mancha-de-phoma. O genótipo hermafrodita M3 apresentou uma tendência a seguir o desempenho da testemunha de resistência (Maradol), tanto para as variáveis avaliadas em fruto quanto para as características avaliadas em folhas, apresentando-se alocado no grupo resistente para a maioria das variáveis, em todas as épocas avaliadas.

O genótipo Maradol já foi relatado como resistente, por apresentar menor número de pinta-preta no lóbulo central em relação a variedade '*Sunrise Solo 72/12*' (Ide et al., 2001) e no grupo resistente em relação à pinta-preta em (Vivas et al., 2012b). Também já foi reportado entre os genótipos que apresentaram menores severidades e incidência de mancha-de-phoma no mamoeiro (Vivas et al., 2010a).

Em relação aos agrupamentos formados verifica-se uma separação dos genótipos quanto ao grupo heterótico - Solo ('Golden' e Sunrise solo 72/12) e Formosa (Calimosa, Hermafrodita M3, Maradol e progênie dioica) - tanto para as características morfoagronômicas quanto para as características morfoagronômicas e de doenças em conjunto. Quintal et al. (2012), analisando o agrupamento das variáveis quantitativas (peso do fruto, comprimento do fruto, diâmetro do fruto, firmeza interna do fruto, firmeza externa do fruto, espessura da polpa, sólidos solúveis totais e incidência de mancha fisiológica), observaram que os acessos do grupo Solo ficaram alocados em apenas um grupo, enquanto os representantes do tipo Formosa estiveram presentes em todos os grupos.

A separação da progênie dioica M3 dos demais genótipos, observada no agrupamento a partir das características relacionadas a doenças (Figura 6), provavelmente foi em função desse genótipo ter apresentado o maior valor para SPPFR, uma vez que na análise conjunta dos dados este genótipo não diferiu estatisticamente dos genótipos Calimosa, Maradol, Hermafrodita M3 e *Sunrise* solo 72/12 para a IPPFR, SPPFO, IPPFO e IMPFO. Para a característica SMPFO a progênie dioica M3 foi estatisticamente igual ao Maradol.

O genótipo hermafrodita M3 se agrupou com o genótipo Calimosa para as características morfoagronômicas, características relativas a doenças separadamente bem como para essas características em conjunto. O genótipo Calimosa apresenta características fenotípicas do grupo Formosa, produzindo frutos alongados nas plantas hermafroditas, com peso médio de 1,25 kg de polpa firme e vermelha e com alto teor de sólidos solúveis, bem como sabor e aroma bastante agradáveis (Ferregueti, 2003). Conforme Vivas (2009), os genótipos Calimosa e Maradol estão entre os genótipos que podem apresentar características desejáveis ao melhoramento visando à resistência à pinta-preta, mancha-de-phoma e mancha-chocolate em mamoeiro. Portanto, o genótipo hermafrodita M3 pode ser um material promissor para o melhoramento da cultura, pois, além de apresentar bons atributos morfoagronômicos pode apresentar características desejáveis ao melhoramento visando à resistência à pinta-preta, mancha-de-phoma.

Para os três agrupamentos apresentados (morfoagronômico, doenças e conjunto) o genótipo hermafrodita M3 se alocou no mesmo grupo do genótipo Maradol. Corroborando com os resultados obtidos no capítulo 1 deste trabalho, reforçando a hipótese de contaminação por pólen entre a progênie dioica M3 resistente e o Maradol.

Embora evidenciada a necessidade de novas avaliações para resultados mais consistentes, provavelmente o genótipo em estudo apresenta resistência para as doenças avaliadas em função da proximidade tanto com o Calimosa quanto com o Maradol. No entanto, ressalta-se que a própria progênie dioica M3 selecionada anteriormente em virtude de apresentar menores médias para incidência e severidade de pinta-preta e mancha-de-phoma exibiu médias elevadas para algumas características, principalmente as relacionadas ao fruto reforçando a necessidade de estudos em outras épocas de avaliação.

3. 2.6 CONCLUSÕES

O genótipo Hermafrodita M3 apresentou bons atributos agronômicos, tanto para produção (NFC, PMF e PROD) quanto qualidade de frutos (FP, FF e TSS).

Considerando as três épocas de avaliação o genótipo Hermafrodita M3 apresentou o mesmo desempenho da testemunha de resistência (Maradol), tanto para as variáveis avaliadas em fruto quanto para as características avaliadas em folhas, apresentando-se alocado no grupo resistente para a maioria das variáveis, em todas as épocas avaliadas.

Foi constatado efeito de época o que evidencia a necessidade de novos estudos em mais épocas, principalmente entre os meses de novembro e março, período onde a severidade e incidência de pinta-preta e mancha-de-phoma atingem os maiores valores, uma vez que a obtenção de um genótipo hermafrodita resistente possibilitará a utilização em novas hibridações e a obtenção de híbridos estáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez, A.M., Nishijima, W.T. (1987) Post harvest diseases of papaya. *Plant Disease* 71: 681–686.
- Araújo, A. E., Suassuna, N. D., Farias, F. J. C., Freire, E. C. (2004) Escalas de notas para avaliação de doenças foliares do algodoeiro. Circular Técnica, 163, *Embrapa Algodão*, Campina Grande, 5p.
- Araújo, G. (2017) Brasil é referência mundial na produção e exportação de mamão. *Jornal Entrepasto*, CEAGESP. Disponível em: <<https://jornalentrepasto.com.br/noticias/2797-brasil-e-referencia-mundial-na-producao-e-exportacao-de-mamao>> Acesso em: 05 jan. 2018.
- Arkle T.D. Jr., Nakasone H.Y. (1984) Floral differentiation in the hermaphroditic papaya. *Hort Science* 19: 832–834.
- Aryal, R., Jagadeeswaran, G., Zheng, Y., Yu, Q., Sunkar, R., Ming, R. (2014) Sex specific expression and distribution of small RNAs in papaya. *Genomics*, 15: 20.
- Aryal, R., Ming, R. (2014) Sex determination in flowering plants: Papaya as a model system. *Plant Science*, 217 (218): 56–62.
- Aveskamp, M.M., Gruyter, J. de. Woudenberg, J.H.C., Verkley, G.J.M., Crous P.W. (2010) Highlights of the Didymellaceae: A polyphasic approach to characterise *Phoma* and related pleosporalean genera. *Studies in Mycology*, 65: 1–60 .

- Awada, M. (1958) Relationships of minimum temperature and growth rate with sex expression of papaya plants (*Carica papaya* L.). Hawaii Agricultural Experiment Station, *Technical Bulletin* 38: 1–16.
- Barros, G. B. A., Aredes, F. A. S., Ramos, H. C. C., Catarina, R. S., Pereira, M.G. (2017) Combining ability of recombinant lines of papaya from backcrossing for sexual conversion. *Revista Ciência Agronômica*, 48: 166–174.
- Barros, G.B.A. (2015) *Desempenho agrônômico, capacidade combinatória e análise molecular de linhagens de mamoeiro (Carica papaya L.) em Topcross*. Tese de Doutorado, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 127p.
- Basulto, F.S., Plaza, R.D., Duch, E.S., Gil, F.E., Fernández, J. M.S., Saavedra, A.L. (2009) Características de calidad de frutos de papaya maradol en la madurez de consumo. *Agricultura Técnica en México*, 35(3): 347–353.
- BRASIL (2018) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Registro Nacional de Cultivares – RNC. Disponível em: <http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.ph> Acesso em: 19 jan. 2018.
- Carvalho, C. de. et al. (2017) *Anuário brasileiro da fruticultura Santa Cruz do Sul*: Editora Gazeta Santa Cruz, 88 p.
- Chaves-Bedoya, G., Nuñez, V.A. (2007) Scar marker for the sex types determination in Colombian genotypes of *Carica papaya*. *Euphytica*, 153: 215–220.
- Chen, C., Yu, Q., Hou, S., Li, Y., Eustice, M., Skelton, R. L., Veatch, O., Herdes, R. E., Diebold, L., Saw, J., Feng Y., Qian, W., Bynum, L., Wang, L., Moore, P. H., Paull, R. E., Alam, M., Ming, R. (2007) Construction of a sequence-tagged high-density genetic map of papaya for comparative and evolutionary genomics in Brassicales. *Genetics*, 177: 2481–2491.
- Cortes, D.F.M., Santa-Catarina, R., Barros, G.B.A., Aredes, F.A.S., Silveira, S.F., Ferregueti, G.A., Ramos, H.C.C., Vianna, A.P., Pereira, M.G. (2017) Model-assisted phenotyping by digital images in papaya breeding program. *Scientia Agricola*, 74: 294–302.
- Costa, A.F.S., Pacova, B.E.V. (2003) Caracterização de cultivares, estratégias e perspectivas do melhoramento genético do mamoeiro. In: Martins, D.S., Costa, A.F.S. (ed.) *A cultura do mamoeiro: Tecnologia e Produção*. Vitória, ES: INCAPER, 497p.

- Costa W.M.; Vastatrix A.H.; Eskes A. B.; Ribeiro L.J.A. (1978) Avaliação do nível de Resistência do cafeeiro. *Bragantia*, 37: 23–29.
- Cruz, C.D. (2013) GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum*, 35: 271–276.
- Daher, R.F., Pereira, M.G., Pereira, A.V., Amaral, Jr. A.T. (2002) Genetic divergence among elephantgrass cultivars assessed by rapd markers in composit samples. *Scientia Agricola*, 59(4): 623–627.
- Damasceno Júnior, P.C., Pereira, T.N.S., Silva, F.F., Viana, A.P., Pereira, M.G. (2008) Comportamento floral de híbridos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) avaliados no verão e primavera. *Ceres* 55(4): 310–316.
- Dantas, J.L.L. (2000a) Cultivares. In: *Trindade, A.V. Mamão. Produção: aspectos técnicos*. Brasília: EMBRAPA-CNPMT, 15p.
- Dantas, J.L.L. (2000b) Introdução. In: *Trindade, A. V. Mamão. Produção: aspectos técnicos*. Brasília: EMBRAPA-CNPMT, 9p.
- Dantas, J.L.L., SOUZA, J.S., PINTO, R.M.S., LIMA, J.F. (1999) Variabilidade genética e melhoramento do mamoeiro. In: *Recursos Genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro*.
- Deputy, J.C., Ming, R., Ma, H., Liu, Z., Fitch, M.M.M., Wang, M., Manshardt, R., Stiles, J.I. (2002) Molecular markers for sex determination in papaya (*Carica papaya* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 106(1): 107–111.
- Development Core Team (2011) R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: The R Foundation for Statistical Computing. ISBN: 3-900051-07-0. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 12 nov. 17.
- Dianese, A.C., Blum, L.E.B., Dutra, J.B., Lopes, L.F., Sena, M.C., Freitas, L.F., Yamanishi, O.K. (2007) Reação de genótipos de mamoeiro à varíola e à podridão-do-pé. *Fitopatologia Brasileira* 32: 419–423.
- Dias, N.L.P., Oliveira, E.J.de. Dantas, J.L.L. (2011) Avaliação de genótipos de mamoeiro com uso de descritores agronômicos e estimação de parâmetros genéticos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 46(11) 1471–1479.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L (1987) A rapid DNA isolation procedure for small amounts offresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19: 11–15.

- Eustice, M., Yu, Q., Lai, C.W., Hou, S., Thimmapuram, J., Liu, L., Alam, M., Moore, P.H., Presting, G.G., Ming, R. (2008) Development and application of microsatellite markers for genomic analysis of papaya. *Tree Genetics and Genomes*, 4: 333–341.
- Fagundes, G.R., Yamanishi, O.K. (2001) Características físicas e químicas de frutos de mamoeiro do grupo Solo comercializados em quatro estabelecimentos de Brasília-DF. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23: 541–545.
- Faleiro, F.G., Ragagnin, A.V., Moreira, M.A., Barros, E.G. (2008) Use of Molecular markers to accelerate the breeding of common bean lines resistant to rust and anthracnose. *Euphytica*, 138: 213–218.
- FAO (2014). Food and agriculture organization of the United Nations. Statistical Databases. Disponível em: http://www.fao.org/waicent/portal/statistics_en.asp
Acesso em: 09 fev. 2017.
- Ferregueti, G.A. (2003) Caliman 01 – o primeiro híbrido de mamão formosa brasileiro. *Papaya Brasil*, 211–218.
- FrutiSéries 7. Mamão (2000). Brasília: Ministério da Integração Nacional. *Boletim Informativo*.
- Galeano, E.V., Martins, D.S. (2015) Evolução da Produção e Comércio Mundial de Mamão. In.: *VI Simpósio do Papaya Brasileiro Tecnologia de produção e mercado para o mamão brasileiro*, Vitória, 2015.
- Hine, R.B., Holtzmann, O.V., Raabe, R.D. (1965) Diseases of papaya (*Carica papaya* L.) in Hawaii. *Hawaii Agric. Exper Sta. Bull.* 136: 26.
- Hofmeyr, J.D.J. (1938) Genetical studies of *Carica papaya*. *South African Journal of Science*, 35: 300–304.
- Hofmeyr, J.D.J. (1939) Sex reversal in *Carica papaya* L. *South African Journal of Science* 36: 286–287.
- Hofmeyr, J.D.J (1967) Some genetic and breeding aspects of *Carica papaya*. *Agronomia Tropical*, 17: 345–351.
- Hunter, J.E., Buddenhagen, I. (1972) Incidence, epidemiology, and control of fruit disease of papaya in Hawaii. *Trop. Agric.* 49: 61–72.

- IBGE (2014) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://downloads.ibge.gov.br/downloads_estatisticas.htm/>. Acesso em: 18 nov. 2017.
- Ide, C.D., Martelleto, L.A.P., Marin, S.L.D., Yamanishi, O.K. (2001) Resposta de diferentes genótipos de mamoeiro à manifestação de varíola. PESAGRO-RIO, Niterói RJ. *Comunicado Técnico nº 259*.
- Lemos, E.G.M., Silva, C.L.S.P., Zaidan, H.A. (2002) Identification of sex in *Carica papaya* L. using RAPD markers. *Euphytica*, 127: 179–184.
- Liao, Z., Yu, Q., Ming, R. (2017) Development of male-specific markers and identification of sex reversal mutants in papaya. *Euphytica*, 213: 53.
- Liberato, J.R., Costa, H. (1997) Incidência de antracnose e podridão peduncular em frutos de mamoeiro em Linhares - ES. *Fitopatologia Brasileira*, 22: 276 (Resumo).
- Liberato, J.R., Mctaggart, A.R., Shivas, R.G. (2007) *Asperisporium* Black Spot of Papaya (*Asperisporium caricae*) Pest and Diseases Image Library. Disponível em: <<http://www.padil.gov.au>> Acesso em: 20 mai. 2016.
- Liberato, J.R., Tatagiba, J.S. (2001) Avaliação de fungicidas in vitro e em pós-colheita para o controle da antracnose e da podridão peduncular em frutos de mamão. *Summa Phytopathologica*, 26: 409–414.
- Liberato, J.R., Zambolim, L. (2002) Controle de doenças causados por fungos, bactérias e nematóides em mamoeiro. In: Zambolim, L., Vale, F.X.R. Do, Monteiro, A.J.A., Costa, H (eds). *Controle de doenças de plantas: fruteiras. Viçosa*, 2: 1023–1170.
- Liu, K., Muse, S.V. (2005) Power Marker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 21: 2128–2129.
- Liu, Z., Moore, P.H., Ma, H., Ackerman, C.M., Ragiba, M., Yu, Q., Pearl, H.M., Kim, M.S., Charlton, J.W., Stiles, J.I., Zee, F.T., Paterson, A.H., Ming, R. (2004) A primitive Y chromosome in papaya marks incipient sex chromosome evolution. *Nature* 427: 348–352.
- Luna, J.V.U. (1986) Variedades de mamoeiro. Epamig, Belo Horizonte, MG *Informe Agropecuário*, 12(134): 14-18.

- Luz, L.N., Pereira, M.G., Barros, F.B., Barros, G.B., Fereguetti, G.A. (2015) Novos híbridos demamoeiro avaliados nas condições de cultivo tradicional e no semiárido brasileiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 37: 159–171.
- Ma, H., Moore, P.H., Liu, Z., Kim, M.S., Yu, Q., Fitch, M.M.M., Sekioka, T., Paterson, A.H., Ming, R. (2004) High-density linkage mapping revealed suppression of recombination at the sex determination locus in papaya. *Genetics*, 166 (1): 419–436.
- Manica, I. (1982) Fruticultura tropical: 3. Mamão. São Paulo: *Agronômica Ceres*, 276p.
- Mantel, N. (1967) The detection of disease clustering and generalized regression approach. *Cancer Res.* 27: 209–220.
- Marin, S.L.D., Pereira, M.G., Amaral Júnior, A.T., Martelleto, L.A.P., Ide, C.D. (2006) Partial diallel to evaluate the combining ability for economically important traits of papaya. *Scientia Agricola*, Piracicaba, 63 (6): 540–546.
- Matos, E.L.S., Oliveira, E.J., Jesus, O.N. (2013) Microsatellite markers of genetic diversity and population structure of *Carica papaya*. *Annals of Applied Biology*, *Annals of Applied Biology*, 163 (2): 298–310.
- Michereff, S. J. (2001) *Fundamentos de Fitopatologia Recife*, 12 de fevereiro. 133p.
- Ming, R., Yu, Q., Moore, P.H. (2007) Sex determination in papaya. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 18: 401–408.
- Moraes, S.A. (2007) Quantificação de doenças de plantas. 2007. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2007_1/doencas/index.htm>. Acesso em: 24 mar. 2018.
- Na, J-k., Wang, J., Murray, J.E., Gschwend, A.R., Zhang, W., Yu, Q., Navajas-Pérez, R., Feltus, F.A., Chen, C., Kubat, Z., Moore, P.H., Jiang, J., Paterson, A.H., Ming, R. (2012) Construction of physical maps for the sex-specific regions of papaya sex chromosomes. *BMC Genomics*, 13: 176.
- Negrutiu, I., Vyskot, B., Barbacar, N., Georgiev, S., Moneger, F. (2001) Dioecious plants. A key to the early events of sex chromosome evolution. *Plant Physiology* 127(4): 1418–1424.
- Nunes, G.S., Ribeiro, M.C. (1999) Pesticidas: uso, legislação e controle. Pesticidas: *Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, 9: 31–34.

- Oliveira E, J., Silva, A.S., Carvalho, F.M., Santos, L.F., Costa, J.L., Oliveira, V.B.A., Dantas, J.L.L. (2010b) Polymorphism microsatellite markers set for *Carica papaya* L. and its use in molecular-assisted selection. *Euphytica*, 173: 279–287.
- Oliveira, A.M.G., Farias, A.R.N., Santos Filho, H.P., Oliveira, J.L.L., Santos, L.B., Oliveira, M.A., Souza Júnior, M.T., Silva, M.J., Almeida, O.A., Nickel, O., Medina, V, M., Cordeiro, Z.J.M. (1994) Mamão para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 52p. (*FRUPEX. Série de publicações técnicas*).
- Oliveira, E.J., Castellen, M.S., Lima, D.S., Barbosa, H.S., Motta, T.B.N. (2007) Marcadores moleculares na predição do sexo em plantas de mamoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(12): 1747–1754.
- Oliveira, E.J., Lima, D.S. De, Lucena, R.S., Motta, T.B.N., Dantas, J.L.L. (2010a) Correlações genéticas e análise de trilha para número de frutos comerciais por planta em mamoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 45 (8): 855–862.
- Parasnis, A.S., Gupta, V.S., Tamhankar, A.S., Ranjekar, P.K. (2000) A highly reliable sex diagnostic PCR assay for mass screening of papaya seedlings. *Molecular Breeding*, 6:337–344.
- Parasnis, A.S., Ramakrishna, W., Chowdari, K.V., Gupta, V.S., Ranjekar, P.K. (1999) Microsatellite (GATA) n reveals sex specific differences in papaya. *Theoretical and Applied Genetics*, 99: 1047–1052.
- Peakall, R., Smouse, P.E. (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6(1): 288–295.
- 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. (2015) Melhoramento genético do mamoeiro: programa Uenf/Caliman. Anais do VI *Simpósio do papaya brasileiro*. ISBN 978-85-89274-25-8, Vitória, 6: 1–41.
- Pérez, O. J., Dambier, D., Ollitrault, P., Coppens, D.G., Brottier, P., Froelicher, Y., Risterucci, A.M. (2006) *Sequências de clones com região microssatélite*. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?db=nucleotide&val=88174231>>. Acesso em: 20 mai. 2016.
- Poltronieri, T.P.S., Silveira, S.F., Vivas, M., Santa-Catarina, R., Cortes, D.F.M., Azevedo, A.O.N., Pereira, M.G. (2017) Selecting black-spot resistant papaya

- genotypes derived from backcrossing and hybrids. *Genetics and Molecular Research* 16 (1): 1–11.
- Quintal, S.S.R., Viana, A. P., Gonçalves, L.S.A., Pereira, M.G., Amaral Júnior, A. T. do. (2012) Divergência genética entre acessos de mamoeiro por meio de variáveis morfoagronômicas. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, 33 (1) 131–142.
- Ramos, H. C.C. (2007) *Melhoramento populacional do mamoeiro (Carica papaya L.) assistido por marcadores microssatélites*. Dissertação (Mestre em Genética e melhoramento de plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 136p.
- Ramos, H.C.C. (2010) *Retrocruzamento em mamoeiro: avanço de gerações e seleção de linhagens via procedimentos clássicos e moleculares*. Tese (Doutorado em Genética e melhoramento de plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 134p.
- Ramos, H.C.C., Pereira, M.G., Silva, F.F., Gonçalves, L.S.A.; Pinto, F.O., Souza Filho, G.A., Pereira, T.S.N. (2011a) Genetic characterization of papaya plants (*Carica papaya* L.) derived from the first generation of backcross. *Genetic and Molecular Research*, 10: 393–403.
- Ramos, H.C.C., Pereira, M.G., Gonçalves, L.S.A., Amaral Júnior, A.T. do, Scapim, C.A. (2011b) *Comparison of multiallelic distances for the quantification of genetic diversity in the papaya*. *Maringá*, 33(1): 59–66.
- Ramos, H.C.C., Pereira, M.G., Pereira, T.N.S., Barros, G.B.A., Ferregueti, G.A. (2014) Genetic-molecular characterization of backcross generations for sexual conversion in papaya (*Carica papaya* L.). *Genetics and Molecular Research*, 13: 10367–10381.
- Rezende, J.A.M., Fancelli, M.I. (1997) Doenças Do Mamoeiro (*Carica Papaya* L.). 3 ed. In: Kimati, H., Amorim, L., Bergamin Filho, A., Camargo, L.E.A., Rezende, J.A.M. *Manual de fitopatologia*. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2: 486–496.
- Rezende, J.A.M., Martins, M.C. (2005) Doenças do mamoeiro. In: Kimati, H., Amorim, L., Bergamin Filho, A., Camargo, L.E.A., Rezende, J.A.M (Eds.). *Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. São Paulo: Ceres, 2: 435–443.
- Ruggiero, C., Marin, S.L.D., Durigan, J.F. (2011) Mamão, uma história de sucesso. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 33 (1): 76–82.

- Santa-Catarina, R. (2016) *Capacidade combinatória, heterose de linhagens endogâmicas recombinantes e análise de imagens digitais em mamoeiro (Carica papaya L.)* Dissertação (Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas) - Campos dos Goytacazes- RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 70p.
- Santos Filho, H.P., Oliveira, A.A.R., Noronha, A.C.Da. S., Sanches, N.F., Lopes, F.F., Andrade, P.R.O., Osório, A.C.B., Souza, J.A.de., Oliveira, A.M.G., Santos, M.de. J. (2007) Monitoramento e controle da pinta preta do mamoeiro. *Cruz das Almas: Embrapa, Mandioca e Fruticultura Tropical*, 5p. (Comunicado técnico 125).
- Santos, L.M.S., Pereira. T. N. S, Souza, M.M.de., Damasceno Junior, P.C., Costa, F.R.da., Ribeiro, B.F., Freitas, N.G.de., Pereira, M.G. (2008) Optical and ultrastructural study of the pollen grain development in hermaphrodite papaya tree (*Carica papaya L.*). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51 (3) 539–545.
- Santos, M., Barreto, M. (2003) Estudo epidemiológico da varíola do mamoeiro em cultivares submetidos a tratamentos com fungicidas. *Summa Phytopathologica* 29(2): 141-146.
- Santos, S.C., Ruggiero, C., Silva, C. L. S. P., Lemos, G.M. (2003) A microsatellite library for *Carica papaya L.* cv Sunrise Solo. *Revista Brasileira de Fruticultura*. Jaboticabal, 25: 263–267.
- Schlötterer, C., Pemberton, J. (1998) The use of microsatellites for genetic analysis of natural populations – a critical review, p. 71-86. In: *Molecular Approaches to Ecology and Evolution*. Eds. Desalle R., Schierwater, B., Birkhäuser, Basel.
- Serrano, L.A.L., Cataneo, L.F. (2010) O cultivo do mamoeiro no Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32 (3): 675–695.
- Silva, F.F. Da., Pereira, M.G., Ramos, H.C.C., Damasceno Junior, P.C., Pereira, T.N.S., Gabriel, A.P.C., Viana, A.P., Ferregueti, G.A. (2008a) 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 Junior, P.C., Pereira, T.N.S., Filho, G.A.S., Ramos, H.C.C., Viana, A.P., Ferregueti, G.A. (2007a) DNA-Marker-assisted sex conversion in elite papaya genotype (*Carica papaya L.*). *Breeding and Applied Biotechnology*, 7: 52–58.

- Silva, F.F., Pereira, M, G., Damasceno Junior, P.C., Pereira, T.N.S., Viana, A.P., Daher, R, F., Ramos, H.C.C., Ferregueti, G.A. (2007b) Evaluation of the sexual expression in a segregating BC1 papaya population. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 7: 16–23.
- Silva, F.F.da., Pereira, M.G., Ramos, H.C.C., Damasceno Junior, P.C., Pereira, T.N.S., Gabriel, A.P.C., Viana, A.P., Daher, R.F., Ferregueti, G.A. (2008b) Estimation of genetic parameters related to morpho-agronomic and fruit quality traits of papaya. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 8: 65–73.
- Sondur, S.N., Manshardt, R.M., Stiles, J.I. (1996) A genetic linkage map of papaya based on randomly amplified polymorphic DNA markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 93: 547–553.
- Souza, B.S., Durigan, J.S., Donadon, J.R., Teixeira, G.H.de.A. (2005) Conservação de mamão ‘Formosa’ minimamente processado armazenado sob refrigeração, *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 27 (2): 273–273.
- Souza, M.F., Ramos, H.C.C., Abreu, F.S., Boechat, M.S.B., Vidal, A.K. (2014) Análise do polimorfismo de locos microssatélites em genótipos de mamoeiro (*Carica papaya* L.): resultados preliminares. In: *VI Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica*, Campos dos Goytacazes-RJ, 2014.
- Storey W.B. (1953) Genetics of the papaya. *Journal of Heredity* 44 (2):70–78.
- Storey, W.B. (1938) Segregations of sex types in Solo papaya and their applications to the selection of seed. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 35: 83–85.
- Storey, W.B. (1969) Papaya. In: Ferwerda, F. P., Wit, F (eds.). *Outlines of Perennial Crop Breeding in the Tropics*. H. Vienman and Zonen N. V. Wageningen. p 389–407.
- Storey, W.B. (1958) Modifications of sex expression in Papaya. *Advances in Horticulture* 2: 49–60.
- Suzuki, M.S., Zambolim, L., Liberato, J.R. (2007) Progresso de doenças fúngicas e correlação com variáveis climáticas em mamoeiro. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, 33 (2): 167–177.
- Tooke, F., Ordidge, M., Chiurugwi, T., Battey, N. (2005) Mechanisms and function of flower and inflorescence reversion, *Journal of Experimental Botany*, 56: 2587–2599.

- Urasaki, N., Tokumoto, M., Tarora, K., Ban, T., Kayano, T., Tanaka, H., Oku, H., Chinen, I., Terauchi, R. (2002) A male and hermaphrodite specific RAPD marker for papaya (*Carica papaya* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 104: 281–285.
- VanBuren, R., Zeng, F., Chen, C., Zhang, J., Wai, C.M., Han, J., Aryal, R., Gschwend, A.R., Wang, J., Na, J-K. (2015) Origin and domestication of papaya Yh chromosome. *Genome Research*, 25: 524–533.
- Vencovsky, R. (1987) Herança quantitativa. In: Paterniani E, Viegas GP (Ed.) *Melhoramento e produção do milho*. Campinas: Fundação Cargill, 135–214.
- Vidal, N.M., Grazziotin, A.L., Ramos, H.C.C., Pereira, M.G., Venancio, T.M. (2014) Development of a gene-centered SSR atlas as a resource for papaya (*Carica papaya*) marker-assisted selection and population genetic studies. *PLoS One*, 9 (11): 112654.
- Vivas, M. (2009) *Avaliação de germoplasma e híbridos de mamoeiro quanto à resistência às doenças causadas pelos fungos Asperisporium caricae, Colletotrichum gloeosporioides, Oidium caricae e Phoma caricae-papayae*. Dissertação (Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas) - Campos dos Goytacazes- RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 103p.
- Vivas, M., Silveira, S.F., Cardoso, D.L., Pereira, M.G., Santos, P.H.D., Ferregueti, G.A., (2012a) Capacidade Combinatória e heterose para resistência a pinta-preta em mamoeiro por meio de análise dialélica. *Trop. Plant Pathol.* 37: 326–332.
- Vivas, M., Silveira, S.F., Pereira, M. G., Cardoso, D.L., Ferregueti, G.A. (2013a) Análise dialélica em mamoeiro para resistência a mancha-de-phoma. *Ciência Rural*, Santa Maria, 43(6): 945–950.
- 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 Breed. Appl. Biotechnol*, 11: 36–42.
- Vivas, M., Silveira, S.F., Pereira, M. G., Teixeira, A.Jr.A., Cardoso, D.L., Pereira, M.G. (2013c) Herança da resistência do mamoeiro a doenças fúngicas com base em análise dialélica de Hayman. *Bragantia*, 72 (4), 332-337.
- Vivas, M., Silveira, S.F., Viana, A.P., Amaral Jr, A.T., Ferregueti, G. A., Pereira, M.G. (2015) Resistance to multiple foliar diseases in papaya genotypes in Brazil. *Crop Protection*, 71: 138–143.

- Vivas, M., Silveira, S.F., Vivas, J.M.S., Pereira, M.G. (2012b) Patometria, parâmetros genéticos e reação de progênies de mamoeiro à pinta-preta. *Bragantia*, 71: 235–238.
- Vivas, M., Silveira, S.F., Vivas, J.M.S., Pereira, M.G. (2013b) Predição de ganhos genéticos e seleção de progênies de mamoeiro para resistência à pinta-preta. *Tropical Plant Pathology*, 38: 142–148.
- Vivas, M., Silveira, S.F., Vivas, J.M.S., Viana, A.P., Junior, A.T.A., Pereira, M.G. (2014) Seleção de progênies femininas de mamoeiro para resistência a mancha-de-phoma via modelos mistos. *Bragantia*, 73 (4): 446–450.
- Vivas, M., Silveira, S.F., Terra, C.E.P.S., Pereira, M.G. (2010a) Reação de germoplasma e híbridos de mamoeiro à mancha-de-phoma (*Phoma caricae-papayae*) em condições de campo. *Tropical Plant Pathology*, 35 (5): 323–328.
- Vivas, M., Terra, C.E.P.S., Silveira, S. F., Fontes, R. V., Pereira, M.G. (2010b) Escala diagramática para avaliação da severidade da pinta-preta em frutos de mamoeiro. *Summa Phytopathol.*, Botucatu, 36 (2): 161–163.
- Vyskot, B., Hobza, R. (2004) Gender in plants: sex chromosomes are emerging from the fog. *Trends in Genetic* 20 (9): 432–438.
- Wang, J., Na, J.K., Yu, Q., Gschwend, A.R., Han, J., Zeng, F., Aryal, R., VanBuren, R., Murray, J.E., Zhang, W., Navajas-Pérez, R., Feltus, F.A., Lemke, C., Tong, E.J., Chen, C., Wai, C.M., Singh, R., Wang, M.L., Min, X.J., Alam, M., Charlesworth, D., Moore, P.H., Jiang, J., Paterson, A.H., Ming, R. (2012) Sequencing papaya X and Yh chromosomes reveals molecular basis of incipient sex chromosome evolution. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 109: 13710–13715.
- Zachmann, R. (1982) Early blinghat of potato; *Alternaria solani*. Technical Information Bulletin 17. *Internacional Potato Center*, Lima, Peru, 13p.
- Zaidan, H.A. (2002) *Micropropagação e uso de marcadores moleculares na determinação do sexo do mamoeiro*. Tese (Doutorado) – Jaboticabal - SP, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 154p.
- Zambolim, L., Junqueira, N.T.V.; Zambolim, E. M. (2006) Manejo integrado de doenças de fruteiras. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, Cabo Frio, RJ. *Frutas do Brasil: saúde para o mundo*. Cabo Frio: SBF/UENF/UF Rural RJ, 19–35.