

MELHORAMENTO POPULACIONAL DO MAMOEIRO:  
RETROCRUZAMENTO ASSISTIDO E OBTENÇÃO DE GENÓTIPOS  
TOLERANTES À MANCHA FISIOLÓGICA

**FERNANDA DE OLIVEIRA PINTO**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
FEVEREIRO - 2012

MELHORAMENTO POPULACIONAL DO MAMOEIRO:  
RETROCRUZAMENTO ASSISTIDO E OBTENÇÃO DE GENÓTIPOS  
TOLERANTES À MANCHA FISIOLÓGICA

**FERNANDA DE OLIVEIRA PINTO**

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

Orientador: Prof. Messias Gonzaga Pereira

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
FEVEREIRO – 2012

MELHORAMENTO POPULACIONAL DO MAMOEIRO:  
RETROCRUZAMENTO ASSISTIDO E OBTENÇÃO DE GENÓTIPOS  
TOLERANTES À MANCHA FISIOLÓGICA

**FERNANDA DE OLIVEIRA PINTO**

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

Aprovada em 27 de Fevereiro de 2012

Comissão Examinadora:

---

Prof<sup>a</sup>. Telma Nair Santana Pereira (Ph.D., Plant Breeding) – UENF

---

Prof<sup>a</sup> Rosana Rodrigues (D.Sc., Produção Vegetal) - UENF

---

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

---

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

Aos meus pais, Marlene e Luís, à minha irmã Carolina, à minha querida avó Maria Elisa e aos meus queridos, Apolo e Nina, que com muito amor, carinho e incentivo torceram por mim

Dedico este trabalho

## **AGRADECIMENTO**

Primeiramente a Deus, por ter-me permitido chegar até aqui. Agradeço pela Sua força e proteção que me permitiram alcançar os difíceis objetivos.

Aos meus pais, Luís e Marlene, à minha irmã Carolina e à minha avó Maria Elisa, pelo amor, incentivo e força que sempre me deram para que conseguisse chegar até o fim.

Aos meus tios e tias, avô e primos, por sempre acreditarem e torcerem por mim.

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

Aos professores do curso de genética e melhoramento de plantas, pelos ensinamentos indispensáveis à minha formação.

À técnica do LMGV, Vitória Régia, pela colaboração e à grande amizade.

À equipe do mamão do LMGV, Helaine, Deisy, Lucas, Célia, Marcelo e Silvana pelas valiosas contribuições em campo e fora dele.

Aos amigos, Michelle, Paula, Monique, Hérika, Lyzia, Roberta, Élide, Shênia, Ruthanna, Dyana, Patrícia, Érica, Liliam, Yaska, Karine, Roberto e Elba, pela grande amizade e companheirismo dedicados a mim por todo este período.

À Caliman Agrícola S/A, pelo suporte financeiro e pela infra-estrutura para realização deste trabalho, em especial ao Srs. Geraldo e Francisco, e aos funcionários Elieuder, Ailton e Eliane.

À Faperj, pela concessão da bolsa.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1. Aspectos botânicos da cultura .....	5
2.2. Biologia floral e herança genética do sexo.....	6
2.3. Mancha fisiológica do mamoeiro.....	8
2.4. Melhoramento genético do mamoeiro.....	9
2.5. Retrocruzamentos aplicados ao melhoramento de plantas.....	11
2.6. Marcadores moleculares no melhoramento do mamoeiro.....	13
2.6.1. Marcadores Microssatélites (SSR).....	14
2.7. Parâmetros genéticos aplicados ao melhoramento.....	16
2.8. Metodologia dos modelos mistos.....	18
3. TRABALHOS.....	22
3.1. MONITORAMENTO DA VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE E DENTRO DE PROGÊNIES DE MAMOEIRO DERIVADAS DE RETROCRUZAMENTO.....	22
3.1.1. RESUMO.....	22
3.1.2. ABSTRACT.....	23
3.1.3. INTRODUÇÃO.....	24

3.1.4. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
3.1.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
3.2. UTILIZAÇÃO DE MODELOS MISTOS PARA SELEÇÃO COMBINADA EM PROGÊNIES SEGREGANTES DE MAMOEIRO.....	59
3.2.1. RESUMO.....	59
3.2.2. ABSTRACT.....	60
3.2.3. INTRODUÇÃO.....	61
3.2.4. MATERIAL E MÉTODOS.....	63
3.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
3.2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
3.3. ANÁLISE MOLECULAR DE PROGÊNIES SEGREGANTES DE MAMOEIRO ORIUNDAS DE RETROCRUZAMENTO VIA MARCADORES MICROSSATÉLITES.....	78
3.3.1. RESUMO.....	78
3.3.2. ABSTRACT.....	79
3.3.3. INTRODUÇÃO.....	80
3.3.4. MATERIAL E MÉTODOS.....	82
3.3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	84
3.3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	101
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	104

## LISTA DE TABELAS

### 3.1. MONITORAMENTO DA VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE E DENTRO DE PROGÊNIES DE MAMOEIRO DERIVADAS DE RETROCRUZAMENTO..... 22

Tabela 1 – Identificação de genótipos da geração  $RC_1S_1$  e das testemunhas (JS12, SS72/12 e Golden) avaliados no presente estudo..... 28

Tabela 2 - Identificação dos indivíduos com a característica Golden e as testemunhas utilizados nas análises das coordenadas principais (PCA)..... 30

Tabela 3 - Médias gerais das características morfoagronômicas avaliadas nas progênies segregantes e testemunhas de mamoeiro..... 40

Tabela 4 - Estimativa dos parâmetros genéticos em progênies segregantes de mamoeiro..... 45

### 3.2. UTILIZAÇÃO DE MODELOS MISTOS PARA SELEÇÃO COMBINADA EM PROGÊNIES SEGREGANTES DE MAMOEIRO..... 59

Tabela 1 - Estimativa dos parâmetros genéticos para as características morfoagronômicas avaliadas via procedimento REML/BLUP..... 67

Tabela 2 - Ranqueamento através do índice de seleção com ganhos genéticos (Gs) e novas médias preditas (Xs) para as características de importância no melhoramento do mamoeiro..... 70

Tabela 3 - Seleção dos melhores genótipos Golden dentro das melhores progênes com base no índice genético padronizado (IG2) e seleção direta..... 72

3.3. ANÁLISE MOLECULAR DE PROGÊNIES SEGREGANTES DE MAMOEIRO ORIUNDAS DE RETROCRUZAMENTO VIA MARCADORES MICROSSATÉLITES..... 78

Tabela 1 - Características dos iniciadores microssatélites utilizados na análise dos genótipos Golden e de seus genitores..... 86

Tabela 2 – Valores da diversidade gênica (DG), heterozigosidade (H) e coeficiente de endogamia ( $f$ ) obtidos para os genótipos Golden..... 88

## LISTA DE FIGURAS

### 3.1. MONITORAMENTO DA VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE E DENTRO DE PROGÊNIES DE MAMOEIRO DERIVADAS DE RETROCRUZAMENTO.... 22

Figura 1 – Descrição do cruzamento e obtenção das progênies segregantes pertencentes à geração  $RC_1S_1$ ..... 31

Figura 2 – Identificação da característica Golden (CCascaF) observadas em frutos de indivíduos avaliados neste estudo..... 43

Figura 3 - Dendrograma circular baseado na análise de todos indivíduos das progênies segregantes de mamão da geração  $RC_1S_1$  e das testemunhas..... 49

Figura 4 - Dendrograma baseado na análise apenas dos indivíduos com a característica Golden pertencentes a  $RC_1S_1$ ..... 51

Figura 5 - Análise das Coordenadas Principais (PCA) considerando somente os indivíduos com a característica Golden ( $RC_1S_1$ ) e as testemunhas..... 53

### 3.3. ANÁLISE MOLECULAR DE PROGÊNIES SEGREGANTES DE MAMOEIRO ORIUNDAS DE RETROCRUZAMENTO VIA MARCADORES MICROSSATÉLITES..... 78

Figura 1 – Proporção genômica do parental recorrente (PR) genótipos possuidores da característica Golden pertencentes à geração RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> .....	90
Figura 2 – Dendrograma obtido a partir dos dados moleculares dos genótipos de mamão provenientes da geração de RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> e dos genótipos parentais ‘JS12’ e ‘Golden’.....	92
Figura 3 - Análise das Coordenadas Principais (PCA) considerando os genótipos de mamão da geração RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> , o parental recorrente (JS12) e o parental doador (Golden), com base na matriz de distância obtida pela análise dos marcadores microssatélites.....	93
Figura 4 – Gráfico com a obtenção do K ótimo para análise da estrutura genética dos indivíduos RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> .....	94
Figura 5 - Análise da estruturação genética dos genótipos de mamão e dos genótipos parentais.....	95

## RESUMO

PINTO, Fernanda de Oliveira, D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Fevereiro de 2012, Melhoramento populacional do mamoeiro: retrocruzamento assistido e obtenção de genótipos tolerantes à mancha fisiológica. Orientador: Messias Gonzaga Pereira. Conselheiros: Telma Nair Santana Pereira e Rosana Rodrigues.

A importância econômica do mamoeiro (*Carica papaya* L.) em relação ao baixo número de cultivares e a crescente pressão do mercado por produtos de melhor qualidade revelam uma necessidade de desenvolvimento de novas cultivares. Cultivares estas que devem possuir qualidade mercadológica e atender às demandas atuais. Devem, também, competir no mercado com cultivares já existentes e que contribuam para a conquista de novos mercados. A qualidade do mamão produzido no Brasil tem sido comprometida pela ocorrência do distúrbio fisiológico conhecido como "Mancha Fisiológica do Mamoeiro" e, diante disso, a obtenção de genótipos tolerantes é uma estratégia de ação para minimizar os prejuízos decorrentes da ocorrência desse distúrbio. A cultivar 'Golden', selecionada pela empresa Caliman Agrícola S/A, no município de Linhares, ES, possui tolerância a este distúrbio. Assim, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver genótipos tolerantes à mancha fisiológica através do método do retrocruzamento com o auxílio de procedimentos moleculares, a fim de identificar e selecionar genótipos superiores com a característica Golden para o avanço de gerações. Três trabalhos oriundos deste projeto de pesquisa serão apresentados aqui. O primeiro diz respeito à estimação da distância genética entre e dentro de

progênies derivadas de retrocruzamento, utilizando dados morfoagronômicos e a seleção de genótipos superiores para o avanço de geração. Cento e vinte e três plantas hermafroditas de mamoeiro e três testemunhas (JS12, Golden e SS72/12) foram avaliadas primeiramente com base em 30 características morfoagronômicas (quantitativas, qualitativas e binárias), tendo sido o algoritmo Gower utilizado para estimar a divergência. Posteriormente, somente os genótipos com a característica Golden foram avaliados. Os resultados permitiram indicação e seleção de três indivíduos promissores para o avanço de geração, portadores da característica Golden. A utilização do algoritmo Gower possibilitou a discriminação das progênies avaliadas e se mostrou um potencial método a ser empregado em estudos de dissimilaridade genética na cultura do mamoeiro. No segundo trabalho, a metodologia dos modelos mistos foi empregada com o objetivo de acessar as informações genéticas dentro de progênies, analisando os ganhos e as novas médias preditas para efetuar a seleção dos genótipos superiores entre e dentro das melhores progênies. O procedimento REML/BLUP foi aplicado, e os valores genéticos obtidos foram multiplicados por pesos agronômicos para a construção de índices de seleção. Foram indicadas e selecionadas as 8 melhores progênies que segregaram para a característica Golden e dentro destas progênies, os 20 genótipos Golden superiores, com base em 26 características morfoagronômicas, para avanço de gerações. No terceiro trabalho, foi realizada a caracterização molecular dos genótipos de mamoeiro com a característica Golden, derivados de RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, via marcadores microssatélites. Este trabalho permitiu o monitoramento do nível de homozigose e transferência do gene/alelo que confere a característica Golden, bem como o monitoramento da proporção genômica parental nos genótipos avaliados. Foram analisados 20 *locos* microssatélites em 21 genótipos de mamoeiro, sendo 19 genótipos com a característica Golden, além dos genótipos parentais. A análise genômica revelou valores médios do genoma parental recorrente de 64%. Tanto o nível de endogamia quanto as proporções genômicas, apesar de apresentarem valores médios abaixo do esperado, indicaram indivíduos mais próximos e com maiores proporções genômicas do genitor recorrente, que se mostraram promissores à seleção.

## ABSTRACT

PINTO, Fernanda de Oliveira, D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, February 2012, Papaya breeding population: assisted backcross and selection of tolerant genotypes to skin freckles. Advisor: Messias Gonzaga Pereira. Committee Members: Telma Nair Santana Pereira e Rosana Rodrigues.

The economic importance of papaya (*Carica papaya* L.), compared to the low number of cultivars and growing market pressure for higher quality products, reveals a need to develop new cultivars. Such cultivars must have market quality and meet current demands. They also must compete in the market with existing cultivars and contribute to the conquest of new markets. The quality of papaya produced in Brazil has been compromised by the occurrence of the physiological disorder known as "Skin Freckles" and, in the face of it, the obtaintion of tolerant genotypes is a strategy to minimize the consequent damages of such disorder. The 'Golden' cultivar, selected by the company Caliman Agricultural S/A, in Linhares, ES, is tolerant to such disorder. Thus, the present work aimed to develop tolerant genotypes to freckles via the backcross method with the assistance of molecular procedures in order to identify and select superior genotypes with the Golden characteristic for the advance of generations. Three papers from this research project will be presented. The first concerns to the estimation of genetic distance among and within progenies derived from backcross using morphological data and the selection of superior genotypes for the advance of generation. One hundred and twenty three hermaphrodite plants and three checks (JS12, Golden and SS72/12) were firstly evaluated based on 30

morphoagronomic characteristics (quantitative, qualitative and binary) and Gower algorithm was used to estimate the divergence. Subsequently, only Golden genotypes were evaluated. The results allowed the indication and selection of three promising Golden individuals in order to advance generation. The use of the Gower algorithm allowed the discrimination of the evaluated progenies and showed up as a potential method to be applied to studies of genetic dissimilarity in papaya crop. In the second study, the mixed model methodology was used aiming to access the genetic information among progenies, analyzing the genetic gain and the predicted new means to accomplish the selection of superior genotypes among and within the best progenies. The REML/BLUP procedure was implemented and the genetic values were multiplied by agronomic weights to the construction of selection indexes. The best eight progenies which segregate for the Golden characteristic were identified and selected and within such progenies, twenty superior Golden genotypes were selected based on 26 morphoagronomic characteristics for generation advancement. In the third study it was performed a molecular characterization of papaya genotypes derived from  $RC_1S_1$  which possess the Golden characteristic via microsatellite markers. This work allowed the monitoring of the homozygosity level and the transferring of the gene/allele that provides Golden characteristic, as well as monitoring the parental genomic proportion of the evaluated genotypes. Twenty microsatellite loci were analysed in 21 papaya genotypes, 19 genotypes with the Golden trait and the parental genotypes. The genomic analysis showed average values of 64% to parental recurrent genome. Both the level of inbreeding and the genomic proportions indicated closer individuals with greater genomic proportions from the recurrent genitor which have seemed to be promising to selection, besides showing up average values lower than expected.

## 1. INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma das fruteiras mais cultivadas e consumidas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, tendo como provável centro de origem, o noroeste da América do Sul, vertente oriental dos Andes, ou mais precisamente, a bacia Amazônica superior, local onde ocorre a máxima diversidade genética (Badillo, 1971), caracterizando-o assim como uma planta tipicamente tropical (Dantas et al., 2002).

O mamoeiro produz frutos aromáticos, excelentes fontes de cálcio e pró-vitamina A, apresenta conteúdo expressivo de vitamina C, além de ser utilizado em dietas alimentares em razão do seu valor nutritivo e digestivo. Os frutos verdes são usados como fonte da enzima proteolítica papaína (Dantas et al., 2002). As diferentes proteinases, presentes no látex, apresentam amplo espectro de atividades e são utilizadas nas indústrias alimentícias e farmacêuticas. Além da produção e consumo da fruta *in natura*, diversas formas de processamento diversificam sua utilização, como geléias, doces, sucos, entre outras. Adicionalmente, estudos têm demonstrado o potencial de extratos do fruto e de sementes de mamão como bactericida (Emeruwa, 1982), contraceptivo masculino (Chinoy et al., 1994) e fonte de energia devido pela alta produção de etanol (Akin-Osanaiye et al., 2005).

O mamão é uma das principais fruteiras tropicais, sendo estabelecidos plantios comerciais em mais de 50 países ao redor do mundo. Economicamente, esta espécie é a mais importante dentro da família Caricaceae, sendo também de

grande relevância para o agronegócio brasileiro. O Brasil tem sido, nos últimos anos, um dos líderes na produção de mamão (FAO, 2011), alcançando, em 2008, uma produção de 1 milhão e 890 mil toneladas, representando 17% da produção mundial (AGRIANUAL, 2011).

Entre as regiões brasileiras produtoras, o nordeste se destaca, sendo o estado da Bahia o líder em produção. Entretanto, o estado com maior relação produção/exportação é o Espírito Santo, o segundo maior produtor nacional, e aproximadamente 49% do que é produzido no estado capixaba é destinado à exportação, já para a Bahia o percentual de exportação do que é produzido é de 20%.

As cultivares de mamoeiro do grupo 'Solo' são exploradas em várias regiões do mundo, por produzirem frutos preferidos no processo de exportação, como, por exemplo, menor tamanho de fruto. As variedades do grupo 'Formosa' apresentam frutos maiores, sendo, geralmente, híbridos comerciais que vêm conquistando espaço tanto no mercado interno quanto externo, a exemplo do híbrido UENF/Caliman 01, em que se percebe um forte crescimento nas vendas principalmente para a Europa, Canadá e Estados Unidos (Dantas e Oliveira, 2009).

No entanto, apesar da expressiva produtividade e da posição de destaque frente ao cenário internacional, existe uma restrita variabilidade genética nos campos de produção de mamão. Isso limita a expansão da cultura e gera vulnerabilidade ao ataque de pragas e doenças. Diante dessa situação, os programas de melhoramento do mamoeiro têm direcionado esforços para a ampliação da base genética dessa cultura, buscando desenvolver variedades e/ou híbridos resistentes ou tolerantes a pragas, doenças e variações ambientais, além de agronomicamente superiores. De maneira geral, esses programas de melhoramento têm como finalidade desenvolver variedades e híbridos competitivos e adaptados às condições ambientais do país, agregando características morfoagronômicas desejáveis, tais como, boa firmeza da polpa, alto teor de sólidos solúveis, redução da ocorrência de deformação de flores e de esterilidade feminina, alta produtividade, entre outras.

A qualidade do mamão em certas regiões do país, como sudeste da Bahia e norte do Espírito Santo, tem sido severamente comprometida pela ocorrência do distúrbio fisiológico conhecido como "Mancha Fisiológica do Mamoeiro". Embora o

mercado interno ainda não seja tão exigente quanto à qualidade do fruto, já existe a preocupação de melhorar a classificação e padronização do fruto comercializado, uma vez que a mancha fisiológica pode restringir a exportação desses frutos *in natura* (Oliveira et al., 2005).

A obtenção de material genético tolerante à mancha fisiológica tem sido o objetivo de muitos técnicos, produtores e exportadores de mamão na última década. A variedade 'Golden', um exemplar do grupo 'Solo', foi selecionada em plantios comerciais da região norte do Espírito Santo por apresentar tolerância a tal distúrbio. Além da tolerância à mancha, a variedade 'Golden' tem características morfoagronômicas bem interessantes como casca lisa, cor da casca verde claro, cor de polpa rosa-salmão, tamanho uniforme e ainda apresenta grande uniformidade nos campos de produção (Martins et al., 2003).

Diante da perspectiva de ampliar a base genética da cultura, informações sobre materiais tolerantes à mancha fisiológica podem contribuir significativamente para o melhoramento do mamoeiro. E isso poderá ser alcançado via melhoramento genético da cultura pela possibilidade da obtenção de materiais tolerantes, de transferir o gene que confere a característica Golden e que parece estar associado a tal tolerância, para um dos genitores do 'Calimosa', o 'JS12', aumentando a disponibilidade de materiais genéticos a serem incluídos em programas de hibridação, até se chegar ao objetivo final desta pesquisa, que é obter o híbrido 'Calimosa' na versão Golden. Tal híbrido é superior em alguns aspectos, como, coloração da polpa mais atrativa e frutos mais doces. Além disso, ele tem maior uniformidade e peso do fruto intermediário, permitindo melhor embalagem, o que facilita a exportação.

Nesse contexto, o grupo de pesquisa da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro vem conduzindo pesquisa que prevê a transferência do gene que confere a característica Golden via retrocruzamento. O método de retrocruzamento, originalmente desenvolvido para a transferência de um ou mais genes, apesar de não gerar novas combinações gênicas ao longo do processo, pode originar uma população inicial com considerável distância genética, ou seja, permite o desenvolvimento de progênies segregantes promissoras (Lorencetti et al., 2006), aumentando a chance de identificação de indivíduos superiores ao longo do processo.

Entretanto, os programas de melhoramento clássico levam muito tempo para chegar a algum resultado prático, especialmente quando se trata de uma espécie semi-perene ou perene (fruteiras), além de terem alto custo financeiro e demandarem grandes espaços experimentais. Para ganhar tempo e aumentar a velocidade de resposta dos programas, os melhoristas lançam mão de ferramentas auxiliares como os marcadores moleculares. Entre as diversas classes de marcadores moleculares atualmente disponíveis, os microssatélites se destacam pelo seu alto poder informativo (Oliveira et al., 2006; Ramos 2011b) e ampla distribuição pelo genoma (Rallo et al., 2000), permitindo uma boa amostragem em estudos genéticos.

Frente ao exposto, a presente pesquisa, teve por finalidade obter genótipos tolerantes à mancha fisiológica do mamoeiro, através de retrocruzamento; monitorar a introgressão do gene responsável pela característica Golden para o 'JS12', e ainda monitorar diferentes proporções genômicas do genitor recorrente (JS12) nas progênes segregantes. Os marcadores microssatélites foram utilizados para gerar informações genéticas de progênes e indivíduos oriundos deste programa de melhoramento.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Aspectos botânicos da cultura

Em relação à espécie *Carica papaya* L., evidências indicam que o centro de origem é a América Central, mais precisamente Sul do México e Costa Rica, onde sua diversidade genética é máxima, caracterizando-o como uma planta tipicamente tropical. Sua distribuição se estende entre 32 graus de latitude norte e sul, sendo as áreas comerciais menos extensivas (Badillo, 1993).

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) pertence à família Caricaceae, que por sua vez possui 6 gêneros e 35 espécies (Badillo, 2000; Van Droogenbroeck et al., 2002). Os gêneros *Carica* (uma espécie), *Horovitzia* (uma espécie), *Jacaratia* (7 espécies), *Jarilla* (três espécies) e *Vasconcellea* (21 espécies) são originários do continente americano, enquanto o gênero *Cylicomorpha* (duas espécies) pertence ao continente africano (Van Droogenbroeck et al., 2004).

O mamoeiro é diploide com  $2n=2x=18$  cromossomos, ou seja, possui número básico de cromossomos haploides (Damasceno Junior et al., 2009) ou genoma  $n=9$  e o tamanho do genoma em torno de 372 Mbp (Armuganathan e Earle, 1991).

Das espécies da família Caricaceae, *Carica papaya* L. é a única de interesse comercial, com produção de frutos comestíveis. Algumas demais espécies da família podem ser utilizadas em programas de melhoramento,

visando, por exemplo, à obtenção de plantas resistentes a doenças e pragas, fatores limitantes da cultura do mamoeiro (Cattaneo, 2001).

Todos os membros da família Caricaceae são estritamente dioicos. As três exceções são *V. monoica*, *V. pubescens* e *Carica papaya*. Entretanto *Carica papaya* L. é uma espécie polígama, caracterizada por apresentar três formas sexuais, feminina, masculina e hermafrodita ou bissexual. O fruto piriforme produzido pelas plantas hermafroditas é preferido sobre o fruto esférico produzido pelas plantas femininas, sendo que estes então possuem importância comercial. A seleção de plantas hermafroditas para produção comercial apresenta um problema especial, pois, a expressão do sexo em mamão pode ser influenciada por fatores ambientais (Storey, 1941 citado por Parasnis et al., 1999; Arkle Junior e Nakasone, 1984).

O mamoeiro possui crescimento rápido, atingindo alturas entre três e 8 metros, caule com diâmetro entre 0,1 e 0,3 metros, ereto, indiviso, herbáceo, fistuloso, terminando com uma concentração de folhas na região apical, disposta de forma espiralada. As folhas se apresentam, de forma alternada no tronco, com grandes limbos foliares, de lâminas ovais ou orbiculares, palmatilobadas, com 7 a 11 nervuras. Os pecíolos são fistulosos, cilíndricos, de comprimento variando de 0,5 a 0,7 metros, podendo atingir 1,0 metro. O sistema radicular é pivotante, com ramificações radiais (Dantas e Castro Neto, 2000).

## 2.2. Biologia floral e herança genética do sexo

Com base em seus tipos florais, podem-se distinguir três tipos de mamoeiro: feminino, masculino e hermafrodita. Segundo Horovitz (1954), o mamoeiro apresenta plantas unissexuais femininas ou ginoicas, unissexuais masculinas ou androicas e hermafroditas ou andromonoicas, de modo que as populações oriundas destes diferentes tipos de indivíduos se distinguem em: populações dioicas, constituídas de plantas com flores femininas (ginoica) e plantas com flores masculinas (androicas); populações ginoicas-andromonoicas, constituídas de plantas com flores femininas (ginoicas) e plantas com flores hermafroditas (andromonoicas); populações andromonoicas-trioicas: constituídas por indivíduos ginoicos, androicos e andromonoicos.

A determinação do sexo em mamoeiros é controlada geneticamente (Storey, 1953; Horovitz e Gimenez 1967; Lassoudière, 1968). O sexo das plantas só é determinado quando as plantas iniciam a floração, ou seja, aproximadamente cinco meses após a germinação (Marin e Gomes, 1987).

Hofmeyer (1938) e Storey (1941), trabalhando independentemente, concluíram que os alelos  $m$ ,  $M_1$  e  $M_2$  determinam, respectivamente, feminilidade, masculinidade e hermafroditismo. Desta forma, o genótipo de indivíduos ginoicos é  $mm$ , dos androicos  $M_1m$  e dos andromonoicos  $M_2m$ , supondo-se que  $M_2$ ,  $M_1$ , e  $m$  sejam alelos múltiplos. As combinações  $M_1M_1$ ,  $M_2M_2$ , são letais zigóticas, não ocorrendo na natureza. A única forma homocigota viável é  $mm$ .

No entanto, pesquisas recentes demonstraram que a determinação do sexo no mamoeiro é controlada por um par de cromossomos sexuais (do tipo X/Y) evoluído recentemente, diferenciados por uma pequena região macho-específica no cromossomo Y (MSY). Nesse sentido, as plantas femininas são homogaméticas com os cromossomos XX, enquanto as plantas masculinas e hermafroditas são heterogaméticas, apresentando as combinações cromossômicas XY e XYh, respectivamente (Liu et al., 2004). É provável que dois genes estejam envolvidos na determinação do sexo em *C. papaya*, sendo um supressor do estame em flores femininas (gene feminilizante) e outro gene supressor do carpelo em flores masculinas (gene masculinizante) (Ming et al., 2007). No entanto, pesquisas mais recentes, identificaram 7 genes na região que controla o sexo, porém, eles não foram capazes de diferenciar os três tipos sexuais, pois não apresentaram expressão diferenciada, nem efeito de dosagem, sugerindo que esses genes não estão envolvidos na determinação do sexo (Yu et al., 2008).

Visando à obtenção de frutos provenientes de flores hermafroditas, por apresentarem maior valor comercial, deve-se priorizar o cruzamento ou a autopolinização de plantas hermafroditas, cuja descendência será de 33% de plantas femininas e 66% de plantas hermafroditas. Em programas de melhoramento genético são utilizados, adicionalmente, os cruzamentos entre plantas hermafroditas e femininas, resultando em 50% de cada um dos tipos genitores (Damasceno Junior et al., 2008).

Apesar de alguns progressos na pesquisa sobre os mecanismos moleculares na determinação do sexo em mamão, há pouca compreensão da

expressão sexual das formas e variações, que estão diretamente relacionados com a eficiência da produção de frutos comerciais. Esta questão é considerada complexa e intrigante tendo em vista o fator letal associado aos alelos dominantes responsáveis pelo hermafroditismo e masculinidade (Storey, 1953; Ming et al. 2007), além da influência de fatores genéticos e ambientais em ambos (Arkle Junior e Nakasone, 1984; Silva et al. 2007). A combinação desses fatores é, possivelmente, responsável pelo alto grau de instabilidade de plantas hermafroditas em termos de expressão sexual, uma variação de flores para formas carpeloides e pentândricas ou possível reversão sexual. Essas variações da flor hermafrodita, classificadas como anormalidades florais, reduzem as colheitas e aumentam a sazonalidade na produção de frutos, levando a oscilações de oferta e, conseqüentemente, às variações quanto aos preços do fruto no mercado.

### 2.3. Mancha fisiológica do mamoeiro

A ocorrência do distúrbio conhecido como “Mancha Fisiológica do Mamoeiro” ou “MFM” tem comprometido a qualidade do mamão em certas regiões do Brasil. Segundo Liberato e Zambolim (2002), a mancha fisiológica do mamoeiro é um distúrbio fisiológico de origem abiótica verificado em maior intensidade na face do fruto exposta à radiação solar direta. A causa para tal distúrbio ainda não está bem esclarecida, embora tenha sido relatada em plantios comerciais desde a década de 60 (Ishii e Holtzmann, 1963).

De acordo com Kaiser et al. (1996), as manchas são visíveis desde frutos verdes até maduros. Como se trata de um distúrbio de etiologia não associada a organismos patológicos (Chan e Tóh, 1988), os fatores genéticos e do ambiente são os principais agentes desencadeadores desse distúrbio. Fatores climáticos, como índice pluviométrico e incidência de radiação, em associação a características da planta, como estágio de desenvolvimento dos frutos e capacidade transpiratória, são determinantes na ocorrência da mancha fisiológica (Eloisa et al., 1994; Machado Filho, 2002). Esses mesmos autores relacionaram a ocorrência da mancha fisiológica ao longo do ano com variáveis do ambiente, sendo observada, também, nas condições de cultivo da cultura na região Norte do

Estado do Rio de Janeiro (Oliveira e Silva, 2003) e oeste da Bahia (Machado Filho, 2002).

Embora o mercado interno ainda não seja tão exigente quanto à qualidade do fruto, os produtores têm se preocupado em melhorar a classificação e padronização do fruto, visando a melhores preços e obtenção de novos mercados consumidores. Nesse intuito, faz-se necessário o desenvolvimento de novas pesquisas e de ações que visem minimizar a ocorrência deste distúrbio na cultura do mamoeiro (Oliveira et al., 2005; Gomes Filho et al., 2008).

A obtenção de material genético tolerante à mancha fisiológica tem sido o principal objetivo de pesquisadores, produtores e exportadores de mamão na última década, visando ao aumento no volume de exportação dessa fruta. A variedade 'Golden' um exemplar do grupo 'Solo', foi selecionada, a partir da variedade 'Sunrise Solo', em áreas comerciais da região norte do Estado do Espírito Santo sendo vista como uma esperança na solução do problema da mancha fisiológica, uma vez que, apresentou tolerância a este distúrbio (Costa e Pacova, 2003).

A solução para este problema poderá ser via melhoramento genético, mas, para o seu sucesso, é fundamental que se conheçam os aspectos relacionados à herança do caráter (Oliveira et al., 2005).

#### 2.4. Melhoramento genético do mamoeiro

O melhoramento genético de plantas tem sido conduzido com alguns objetivos específicos, porém sua meta geral é a elevação do valor econômico da espécie (Borém, 2001). De acordo com Martins et al. (2003), para que um programa de melhoramento atinja seus objetivos finais, é necessário definir precisamente os critérios de seleção e as características a serem avaliadas.

Segundo Giacometti e Mundim (1953), os primeiros trabalhos envolvendo o melhoramento do mamoeiro foram desenvolvidos por Hofmeyr, em 1938, na União Sul Africana, cuja publicação abordava questões básicas sobre a herança do sexo na cultura. Em seguida, outros trabalhos foram desenvolvidos por Storey (1938, 1941, 1953), Horovitz e Giménez (1967) e por Hofmeyr (1967).

Os programas de melhoramento do mamoeiro visam a desenvolver variedades e/ou híbridos resistentes a doenças, agregando características

agronômicas desejáveis. Além disso, precisam também conduzir a um acréscimo da variabilidade genética e, conseqüentemente, elevar a base genética da espécie. Com isso, aumenta-se a possibilidade de obter ganho genético por seleção, aumentando também a chance de se chegar mais rapidamente a variedades e híbridos que possam ser utilizados pelos agricultores (Rodríguez, 1998).

Há um grande desafio para os melhoristas da cultura, pois as diversas características de interesse não estão reunidas em um único genótipo. Entre essas características destacam-se boas características agronômicas em termos de produtividade, frutificação precoce, porte baixo, baixa taxa de flores estéreis e deformadas (carpeloides e pentândricas), com frutos de qualidade, alto teor de sólidos solúveis, casca fina, ausência de manchas, resistência ao armazenamento e transporte, pequena cavidade interna, cavidade interna em forma de estrela, e ainda a resistência às principais doenças.

As ferramentas biotecnológicas têm apresentado novas possibilidades para alguns problemas da cultura do mamoeiro como o uso dos transgênicos com resistência ao vírus da mancha anelar. Além disso, a utilização dos marcadores moleculares também apresenta novas possibilidades para o melhoramento, no auxílio para a predição do sexo, estudos filogenéticos da família Caricaceae, construção de mapas de ligação e identificação de genes de resistência a doenças. Assim, o uso dos marcadores moleculares pode aumentar a dinâmica e a capacidade de resposta dos programas de melhoramento frente aos constantes desafios impostos ao desenvolvimento de cultivares de mamão (Dantas e Oliveira, 2009).

Dessa forma, o melhoramento genético do mamoeiro pode contribuir substancialmente para aumentar a disponibilidade de cultivares (linhagens e/ou híbridos) com menor custo de aquisição de sementes, maior produtividade, melhoria na qualidade e no aspecto da fruta, com redução dos custos de produção e garantia de maior competitividade, evitando-se o caráter itinerante que caracteriza a cultura (Dantas e Lima, 2001), além de permitir um maior aproveitamento do potencial de exportação da fruta.

Até fins do século IX, no Havaí - EUA, os mamoeiros primitivos possuíam frutos grandes, sendo procedentes das ilhas marquesas. A introdução de mamoeiros de frutos pequenos em 1911, oriundos de Barbados e Jamaica,

mudou completamente o rumo do desenvolvimento do mamoeiro no Havaí e no mundo. Foi dado o nome de 'Solo' para estes frutos, pelos trabalhadores porto-riquenhos da Hawaii Agricultural Experiment Station, para indicar que ele era pequeno o suficiente para servir a uma só pessoa (Nakasone e Arkle Junior, 1971).

No Brasil, antes da introdução do mamoeiro 'Solo', praticamente não existiam variedades comerciais para plantio. As sementes existentes no país apresentavam alto grau de segregação, uma vez que eram exclusivamente dioicas. De acordo com Nakasone et al. (1972), progênies com características desejáveis terão um alto grau de uniformidade quando submetidas a várias gerações de autopolinização.

O programa de melhoramento do mamoeiro da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) tem obtido bons resultados com destaque para o lançamento e recomendação do primeiro híbrido nacional de mamão, 'UENF/Caliman 01' ou 'Calimosa', e a comercialização tanto do fruto quanto das sementes tem ultrapassado as fronteiras nacionais, demonstrando boa aceitação pelo mercado internacional. Tais avanços foram alcançados pela implantação de programas de melhoramento genético apoiados em procedimentos clássicos, como, por exemplo, retrocruzamentos associados ao uso de marcadores moleculares como ferramenta auxiliar (Silva et al., 2008; Ramos et al., 2010a) e cruzamentos e análise dialélica (Marin et al., 2006), proporcionando um aumento na velocidade de resposta dos programas de melhoramento e incrementos dos ganhos genéticos. Além disso, também são direcionados esforços para o desenvolvimento e condução de populações segregantes (Ramos et al., 2010b), os quais proporcionam uma fonte de variabilidade, permitindo a identificação e seleção de genótipos agronomicamente superiores, bem como a utilização de testadores (Ide et al., 2009) e estudos de divergência e parâmetros genéticos (Cattaneo, 2001).

## 2.5. Retrocruzamentos aplicados ao melhoramento de plantas

O método do retrocruzamento é utilizado quando se deseja agrupar uma ou duas características de herança simples a uma cultivar com características suficientemente satisfatórias. Populações de retrocruzamento são desenvolvidas

com o intuito de melhorar a expressão fenotípica de uma característica de um dado cultivar para a qual ele é deficiente. O termo retrocruzamento se refere aos repetidos cruzamentos dos indivíduos da população segregante com um dos genitores. O genitor que contém o alelo que confere fenotipo desejado é denominado de não recorrente ou doador, ou seja, é utilizado apenas uma vez nos cruzamentos, e a população  $F_1$  é então novamente cruzada com o genitor de características satisfatórias. O genitor submetido aos sucessivos cruzamentos com os indivíduos da população segregante é denominado de recorrente.

Quando o gene a ser transferido é recessivo, os retrocruzamentos são intercalados com autofecundações. Desta maneira, será obtido um genótipo com as mesmas qualidades do pai recorrente sendo, porém, superior a este pai na característica específica para a qual o programa foi conduzido (Allard, 1971).

O método de retrocruzamento também tem sido citado como estratégia para obtenção de população segregante, com possibilidade de grande sucesso com a seleção de indivíduos com grande número de alelos favoráveis para determinada característica. Isso porque este método permite a obtenção de populações com 25% ou 75% de alelos favoráveis (a depender do genitor recorrente), ou outras proporções, dependendo do número de ciclos de retrocruzamento e da quantidade de genótipos utilizados para obtenção das populações segregantes (Ramalho et al., 1999). Lorencetti et al. (2006), ao utilizarem tal método para desenvolver progênies superiores de aveia, verificaram que este pode ser empregado como estratégia eficiente no desenvolvimento de populações segregantes promissoras.

Este método associado à utilização de marcadores moleculares no melhoramento genético tem se tornado de grande relevância. A utilização destes marcadores moleculares, com o objetivo de aumentar a eficiência dos retrocruzamentos, foi relatado por Rumin (2005). A seleção para o genitor recorrente utilizando marcadores moleculares pode aumentar significativamente a eficiência dos programas de retrocruzamentos por permitir a seleção de plantas que apresentem maior proporção genômica do genitor recorrente (Ramos et al., 2011).

Segundo Ferreira e Grattapaglia (1998), o uso de marcadores moleculares em programas de introgressão gênica via retrocruzamento é uma das maiores aplicações da tecnologia dos marcadores moleculares no melhoramento.

No planejamento de um programa de retrocruzamento assistido, devem-se considerar a economia de tempo conseguida com o uso dos marcadores, o número de marcadores necessários para atingir os objetivos e o número de genótipos a ser avaliado.

## 2.6. Marcadores moleculares no melhoramento do mamoeiro

Os marcadores moleculares, segundo Milach (2006), são características que diferenciam dois ou mais indivíduos e são herdados geneticamente. No entanto, Ferreira e Grattapaglia (1998) definem um marcador molecular como qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso ou de um segmento específico de DNA. Conforme tais autores, a seqüência de nucleotídeos de um marcador molecular pode ou não ser conhecida.

Os marcadores moleculares são ferramentas muito exploradas pelo melhoramento genético. Desde seu desenvolvimento, os marcadores vêm sendo constantemente modificados para aumentar sua utilidade e trazer automação para o processo de análise genômica. Essas ferramentas vieram para auxiliar as estratégias de melhoramento por serem capazes de acelerar a resposta nos programas. Além disso, podem contribuir significativamente para o conhecimento básico da cultura e do caráter estudado e para a geração e desenvolvimento de produtos melhorados (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

O uso de marcadores moleculares nos programas de melhoramento genético tem inúmeras aplicações. Como exemplo, tem-se a possibilidade de acessar a variabilidade genética disponível nos bancos de germoplasma, permitindo o direcionamento dos cruzamentos, a classificação do germoplasma em grupos distintos, a identificação de acessos duplicados e a formação de coleções nucleares. Além disso, é possível promover a associação de marcadores de DNA com genes de interesse, permitindo a seleção precoce de características relacionadas a eles. Tais marcadores também têm sido utilizados na construção de mapas genéticos, no mapeamento e análise de herança qualitativa ou de regiões genômicas associadas a caracteres quantitativos, os QTL (Quantitative Trait Loci). Outras aplicações, como a determinação do grau de recuperação do genoma do parental recorrente em programas de

retrocruzamento, também têm sua importância, já que se pode reduzir o número de ciclos de retrocruzamento necessários para a transferência do(s) gene(s).

Nos programas de melhoramento do mamoeiro, os marcadores moleculares vêm sendo empregados com diferentes propósitos. Têm sido utilizados para introgressão gênica em programa de retrocruzamento monitorado por marcadores (Silva et al., 2008; Ramos et al., 2010a), seleção assistida por marcadores (Oliveira et al., 2010), avaliação de diversidade genética (Cattaneo, 2001), construção de mapas genéticos de ligação (Sondur et al., 1996; Ma et al., 2004; Chen et al., 2007), DNA fingerprinting para caracterização de cultivares (Vitória et al., 2004), marcadores ligados ao sexo (Urasaki et al., 2002), entre outros.

#### 2.6.1. Marcadores microssatélites (SSR)

Os genomas de eucariotos possuem muitas sequências simples repetidas, que consistem de 1 a 6 nucleotídeos repetidos em tandem. Essas regiões são denominadas de microssatélites, SSR (*Simple Sequence Repeats*) ou STR (*Short Tandem Repeats*). As sequências de DNA que flanqueiam os microssatélites são geralmente conservadas dentro de uma mesma espécie, permitindo o desenho de *primers* para amplificações específicas desses locos via reação em cadeia da polimerase (Oliveira et al., 2006). Essas amplificações tendem a mostrar extensivo polimorfismo, consequência da ocorrência de diferentes números de unidades repetidas dentro da estrutura do microssatélite (Morgante e Olivieri, 1993). Além da capacidade de gerar altos níveis de polimorfismo, os microssatélites ainda apresentam como vantagens a alta reprodutibilidade, a simplicidade e a rapidez da técnica, pequena quantidade de DNA requerida, baixo custo de utilização e grande poder de resolução (Oliveira et al., 2006).

As repetições microssatélites são altamente variáveis e ocorrem frequentemente em regiões gênicas ou próximas a elas (Morgante et al., 2002). Comparando regiões codantes e não-codantes em diferentes espécies de plantas, foi observado que *motifs* microssatélites de tri e tetranucleotídeos são mais comuns em íntrons, ao passo que outros tipos são mais comumente encontrados em éxons (Tóth et al., 2000). Tais marcadores fornecem dados que podem ser

diretamente interpretados e são particularmente bem adequados para estudos genéticos de populações, que dão a eles a grande vantagem sobre outros marcadores altamente polimórficos como os AFLPs (Ocampo et al., 2004).

Os marcadores SSR são úteis para uma variedade de aplicações em genética de plantas e melhoramento pela sua reprodutibilidade, natureza multialélica, alto grau de polimorfismo, herança codominante, relativa abundância e boa cobertura do genoma (Powell et al., 1996). Os marcadores SSR têm sido úteis para integração de mapas genéticos e mapas físicos e têm provido os melhoristas e geneticistas com uma ferramenta eficiente para associar variação genética à fenotípica (Gupta e Varshney, 2000).

Os microssatélites são marcadores codominantes, ou seja, ambos os alelos de um indivíduo heterozigoto são visualizados. Além disso, o que distingue este marcador dos demais é a sua natureza multi-alélica numa população, em que potencialmente todos os alelos de um determinado loco podem ser detectados e discriminados.

Os projetos genoma e o surgimento de novas metodologias de sequenciamento propiciaram redução dos custos e aumento expressivo do número de sequências depositadas nos bancos de dados de DNA (GenBank/NCBI), gerando oportunidades para a identificação de microssatélites, pela estratégia de exploração desse banco (Zane et al., 2002).

O desenvolvimento de ferramentas moleculares baseadas em marcadores microssatélites poderá contribuir sobremaneira para elucidar o controle genético de algumas características quantitativas complexas, além de permitir a construção de mapas genéticos, a identificação de regiões cromossômicas associadas às QTLs (*Quantitative Trait Loci*), bem como seus efeitos sobre o caráter em estudo. Dessa forma, o uso de marcadores microssatélites, associados aos métodos tradicionais de melhoramento permitirá o estabelecimento da seleção assistida por marcadores (SAM) para melhorar a dinâmica e a eficiência dos programas de melhoramento, de forma a superar as limitações da seleção fenotípica supracitada.

Os marcadores SSR permitem ainda monitorar o nível de homozigose das linhagens e acelerar seu processo de obtenção, identificando os indivíduos que apresentam maior número de locos em homozigose (Milach, 1998; Oliveira et al., 2010; Ramos et al., 2011b). Esses marcadores são os mais indicados para o

monitoramento da pureza genética, pelas suas características de multialelismo e codominância, apresentando um elevado conteúdo de informação genética por loco. Uma vez identificada a heterozigosidade residual em uma linhagem, ela pode ser submetida ao avanço na geração de autofecundação a partir de indivíduos únicos que apresentem níveis elevados de homozigose entre os locos avaliados (Guimarães e Paiva, 2003).

Assim, os microssatélites no melhoramento têm sido utilizados para análise genética de plantas bem como, para medir a diversidade genética (Vieira et al. 2007), avaliar a estrutura populacional (Albertini et al. 2011) e integrar mapas genéticos e físicos (Chen et al. 2011).

## 2.7. Parâmetros genéticos aplicados ao melhoramento de plantas

O conhecimento da natureza e da magnitude dos efeitos genéticos que controlam determinado caráter apresenta grande importância na seleção e na predição do comportamento de gerações híbridas e segregantes (Cruz e Regazzi, 2001).

A variação contínua, os efeitos pouco pronunciados de cada gene e o efeito muitas vezes grande do ambiente fizeram com que métodos estatístico-genéticos adequados fossem desenvolvidos para o estudo de caracteres quantitativos em substituição aos métodos clássicos da genética (Vencovsky, 1969).

A estimação dos parâmetros genéticos em populações, de acordo com Cockerham (1956) citado por Rodríguez (1998), é necessária para obter informações sobre a natureza dos genes envolvidos na herança dos caracteres sob investigação e ainda para estabelecer a base para a escolha dos métodos aplicáveis à população.

O estudo combinado das variâncias e das médias das populações é possível de ser realizado com ensaios de gerações, comumente envolvendo progenitores  $P_1$  e  $P_2$ , gerações  $F_1$  e  $F_2$ , de retrocruzamento  $RC_1$  e  $RC_2$ , e é de grande importância pela complementaridade das informações, promovendo um conhecimento mais profundo do fenômeno estudado (Cruz e Regazzi, 2001).

É importante então conhecer que proporção da estimativa obtida, tanto nas médias quanto nas variâncias, apresenta causa genética e que proporção

apresenta causa não genética, sendo que esta última, na maioria das vezes, atua contra o interesse do melhorista. Também é importante identificar na fração genética quais proporções podem ser atribuídas a fatores genéticos aditivos, dominantes e epistáticos. A avaliação destes fatores está intimamente relacionada com os objetivos do programa de melhoramento (Cruz e Regazzi, 2001).

Informações a respeito da magnitude da variância aditiva e da atribuída aos desvios de dominância, negligenciando-se a de natureza epistática, possibilitam a avaliação da potencialidade da população para o melhoramento e facilitam as decisões de escolha do método de seleção mais eficiente a ser empregado (Falconer, 1987).

A variância aditiva é um dos fatores determinantes da covariância entre parentes e, por esta razão, sua existência é um indicativo de um grande relacionamento entre o comportamento da unidade de seleção e a unidade melhorada. Esta variância também tem sido definida como a relação linear entre os valores genotípicos dos indivíduos de uma população em equilíbrio e o número de alelos favoráveis que eles possuem. Assim, a existência desta variância constitui um indicativo de facilidades de identificação de genótipos geneticamente superiores, os quais proporcionarão ganhos mais vantajosos em razão da sua seleção (Cruz e Regazzi, 2001).

De acordo com Falconer (1987), a variância atribuída aos desvios de dominância, quando constitui uma fração considerável da variância genotípica, é um indicador das dificuldades no processo seletivo tanto em termos de identificação de genótipos com maior concentração de alelos quanto na quantidade do ganho seletivo obtido pela seleção e recomendação de indivíduos eleitos. A existência de variância atribuída à dominância é desejável em programas que objetivam a exploração do vigor manifestado em combinações híbridas.

Outro parâmetro de grande importância para um programa de melhoramento é a estimativa da herdabilidade, pois ela permite antever a possibilidade de sucesso com a seleção, uma vez que reflete a proporção da variação fenotípica que pode ser herdada (Ramalho, 2000).

Segundo Falconer (1987), a herdabilidade é uma propriedade não somente de um caráter, mas também da população e das circunstâncias às quais

os indivíduos estão sujeitos. Uma vez que o valor da herdabilidade depende da magnitude de todos os componentes de variância, uma alteração em qualquer um deles afetará o valor da herdabilidade; maiores variações das condições reduzem a herdabilidade, e maiores uniformidades das condições aumentam a herdabilidade. A principal função da herdabilidade é o seu papel preditivo, que expressa a confiabilidade do valor fenotípico como estimador do valor genotípico de tal forma que quanto maior a herdabilidade maior o ganho genético por seleção.

Ainda de acordo com Falconer (1987), a magnitude da herdabilidade influencia o método de melhoramento a ser utilizado. Os caracteres com menores herdabilidade são ligados com a adaptação reprodutiva, enquanto os caracteres têm elevada herdabilidade são os que podem ser julgados no campo biológico como os menos importantes como determinantes do valor seletivo natural.

A correlação também constitui um parâmetro de grande utilidade em um programa de melhoramento, pois a associação entre caracteres é um fator muito frequente na natureza. Segundo Cruz e Regazzi (2001), a correlação fenotípica pode ser mensurada diretamente de dois caracteres em uma população com certo número de indivíduos. Estes autores afirmam que essas correlações têm causas genéticas e ambientais, entretanto somente as genéticas envolvem uma associação de natureza herdável, podendo ser usadas na orientação de programas de melhoramento. A causa da correlação genética é a pleiotropia. O ambiente é uma causa de correlação em que suas características são influenciadas pelas mesmas condições ambientais.

## 2.8. Metodologia dos modelos mistos

No melhoramento de plantas perenes, as técnicas de avaliação genética desempenham papel fundamental, pois permitem a predição dos valores genéticos aditivos e genotípicos dos candidatos à seleção, propiciando uma seleção mais acurada (Resende et al., 2002a). Tais técnicas são relevantes tanto para o melhoramento intrapopulacional quanto interpopulacional, visando à utilização de híbridos heteróticos.

A metodologia dos modelos mistos foi primeiramente proposta por Henderson (1949) para ser utilizada na avaliação genética de animais. Tal modelo

é caracterizado por possuir um ou mais efeitos fixos, além da média geral, e um ou mais efeitos aleatórios, além do erro experimental. O modelo misto possibilita modelar, simultaneamente, os efeitos fixos e aleatórios. Assim, é possível obter estimativas para os efeitos fixos e previsões para os efeitos aleatórios. Para o último, o mais utilizado, atualmente, é o “melhor preditor linear não-viciado” (BLUP), pois permite a maximização dos ganhos genéticos a cada ciclo de seleção.

As técnicas ótimas de avaliação genética envolvem, simultaneamente, a previsão de valores genéticos e a estimação de componentes de variância. De maneira genérica, o procedimento ótimo de previsão de valores genéticos é o BLUP ao nível individual. Para o caso balanceado, os preditores BLUP ao nível individual equivalem aos índices de seleção multiefeitos, os quais envolvem todos os efeitos aleatórios do modelo estatístico associado às observações fenotípicas. A previsão usando BLUP ou os índices multiefeitos assume que os componentes de variância sejam conhecidos. Entretanto, na prática, são necessárias estimativas fidedignas dos componentes de variância (parâmetros genéticos) de forma a se obter o que se denomina BLUP. O procedimento padrão de estimação de componentes de variância é o da máxima verossimilhança restrita (REML), desenvolvido por Patterson e Thompson (1971).

A estimação de parâmetros genéticos associados à seleção no contexto do melhoramento de plantas anuais é bem descrito em várias obras publicadas no Brasil (Vencovsky, 1987; Cruz, 1997; Ramalho et al., 2000). Por outro lado, a estimação e a previsão no contexto do melhoramento de plantas perenes demandam o uso da metodologia de modelos mistos (REML/BLUP) ao nível individual, que vem sendo aplicada ao melhoramento de espécies florestais como o eucalipto, o pinus, a acácia-negra e a seringueira (Resende et al., 1998; Resende e Fernandes, 1999; Costa et al., 1999), de espécies produtoras de alimentos estimulantes contendo alcaloides como a cafeína e a teobromina tais quais a erva-mate, o cacau e o café (Resende e Dias, 2000), de fruteiras como a acerola (Resende et al., 2002a) e de palmáceas como a pupunha (Farias Neto e Resende, 2001), mas necessita ser difundida e disseminada.

Os valores genéticos aditivos preditos são úteis tanto para o melhoramento intrapopulacional quanto para o melhoramento interpopulacional. Para o melhoramento intrapopulacional, norteia a seleção visando ao

melhoramento progressivo da espécie. Para o melhoramento interpopulacional, permite a escolha criteriosa dos indivíduos a serem empregados nos cruzamentos, bem como conduz ao próprio melhoramento do híbrido, em função dos melhoramentos realizados nas espécies puras.

As inferências sobre os materiais genéticos em experimentos de campo, a fim de classificar aqueles candidatos a serem lançados como cultivares, não é tarefa fácil, pois essas inferências devem ser baseadas nos verdadeiros valores genotípicos. Ou seja, inferência de genótipos, em qualquer fase de um programa de melhoramento, deve ser baseada em médias genéticas e não fenotípicas, pois as médias genotípicas representam as médias futuras das cultivares.

Conforme Resende (2004), a análise de variância (ANOVA), desde sua criação por Ronald Fisher, junto à análise de regressão, foram, por muito tempo, a base da análise e modelagem estatística. Porém, o desenvolvimento dos métodos BLUP (*Best Linear Unbiased Prediction*) por C. R. Henderson, na década de 1940 (Bernardo, 2002) e REML (Restricted Maximum Likelihood) por Patterson e Thompson em 1971 (Resende, 2002) fez com que estes métodos constituíssem, hoje, modelos de maior precisão para a análise em uma gama de aplicações, substituindo, com vantagem, o método ANOVA, especialmente nos casos de experimentos com certos graus de desbalanceamento, muito embora, como afirma Bernardo (2002), o procedimento BLUP não tivesse sido muito utilizado no melhoramento de plantas até o início dos anos de 1990.

Sendo o problema central do melhoramento de plantas a predição dos valores genéticos dos genótipos superiores, torna-se imprescindível o uso dos métodos BLUP e REML. A predição do BLUP presume o conhecimento dos valores de componentes de variância e, como isto não é possível, têm-se utilizado estimativas destes componentes via REML, ambos associados a um modelo linear misto. Ou seja, modelo que contém efeitos fixos além da média geral e efeito aleatório além do erro (Resende, 2004).

No entanto, uma alternativa a ser empregada na construção de índices e que pode resultar em um processo de seleção mais acurado é o emprego de componentes de variância estimados por máxima verossimilhança restrita (REML) e valores genéticos ou genotípicos preditos pelo melhor preditor linear não viciado (BLUP) (Resende, 2002b). Os estudos de melhoramento genético, além de permitirem estimar alguns parâmetros, permitem ainda estimar o ganho genético

direto com a seleção para algumas características relevantes no melhoramento do mamoeiro.

### 3. TRABALHOS

#### 3.1. MONITORAMENTO DA VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE E DENTRO DE PROGÊNIES DE MAMOEIRO DERIVADAS DE RETROCRUZAMENTO

##### 3.1.1. RESUMO

O melhoramento genético do mamoeiro pode contribuir para uma maior produtividade e este objetivo pode ser alcançado mediante aplicação de métodos de melhoramento e seleção de variedades com rendimentos superiores, bem como através da obtenção de linhagens ou híbridos com resistência a doenças e pragas. A ocorrência da "Mancha Fisiológica do Mamoeiro" tem comprometido a qualidade do mamão produzido no Brasil, e a obtenção de genótipos tolerantes faz parte das estratégias de ação para minimizar os prejuízos decorrentes da ocorrência desse distúrbio. A cultivar 'Golden', que surgiu de uma mutação natural da cultivar 'Sunrise Solo', tem se mostrado tolerante. A análise baseada em dados morfoagronômicos foi utilizada para avaliar a distância genética entre progênies de mamoeiro derivadas de retrocruzamento, auxiliando na identificação de genótipos com a característica Golden superiores agronomicamente. O presente trabalho teve como objetivo estimar a distância genética entre e dentro de progênies derivadas de retrocruzamento, utilizando dados morfoagronômicos e

seleção de genótipos Golden superiores para o avanço de geração de autofecundação e retrocruzamento. Cento e vinte e três plantas hermafroditas de mamoeiro e três testemunhas (cultivares JS12, Golden e SS72/12) foram avaliadas primeiramente com base em 30 características morfoagronômicas (quantitativas, qualitativas e binárias), tendo o algoritmo de Gower sido utilizado para estimar a divergência. Posteriormente, apenas os genótipos com a característica Golden e conseqüentemente tolerantes à mancha foram avaliados. Os resultados possibilitaram verificar que para quase todas as variáveis houve diferença estatística significativa entre os genótipos avaliados. Os agrupamentos gerados reuniram de forma coerente os indivíduos das progênies segregantes avaliadas dentro dos grupos formados. Com base nos resultados obtidos pela formação de diferentes dendrogramas e análises de dispersão gráfica, foi possível indicar três indivíduos possuidores da característica Golden - 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-11, 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10 e 31RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10 - como genótipos mais promissores ao avanço de geração de autofecundação e retrocruzamento devido à presença do gene em questão, e mais similares ao genitor recorrente, além de possuírem bons atributos morfoagronômicos favoráveis à seleção.

### 3.1.2. ABSTRACT

The papaya breeding can contribute to greater productivity and such goal can be reached by the application of breeding and selection methods of varieties with higher yields as well as by obtaining lines or hybrids with resistance to diseases and pests. The occurrence of the physiological disorder known as "Skin Freckle " has been compromising the quality of papaya produced in Brazil and the obtaining tolerant genotypes is part of the strategies to minimize the damages of such disorder. The 'Golden' cultivar, which arose from a natural mutation of the 'Sunrise Solo' cultivar has proven to be tolerant. The analysis based on morphoagronomic data was used to evaluate the genetic distance among papaya progenies derived from backcrossing, thus helping to identify agronomical superior genotypes with Golden trait. The present work aimed to estimate the genetic distance among and within progenies derived from backcross using

morphoagronomic data and selection of superior Golden genotypes to the advance of generation of selfing and backcross. One hundred and twenty three hermaphrodite plants and three checks (JS12 cultivars, Golden and SS72/12) were firstly evaluated based on 30 agronomic characteristics (quantitative, qualitative and binary) and Gower algorithm was used to estimate the divergence. After that, only Golden genotypes therefore tolerant to Skin Freckle were evaluated. The results allowed to verify that for almost all variables there were significant statistic differences among genotypes. The clustering gathered consistently the individuals from the segregating progenies evaluated among the formed groups. Based on the results of different dendrograms and analysis of graphic dispersion, it was possible to indicate three individuals with the Golden characteristic (38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-11, 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10 and 31RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10) as the most promising genotypes to the advance of generation of selfing and backcross due to the presence of such gene and as the most similar genotypes to the recurrent parent and, furthermore, they possess good morphoagronomic attributes that are favorable to selection.

### 3.1.3. INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma das principais fruteiras tropicais, sendo estabelecidos plantios comerciais em mais de cinquenta países ao redor do mundo. Pertence à família Caricaceae, compreendendo 35 espécies alocadas em seis gêneros. Do total de espécies, trinta e duas são dioicas, duas trioicas e uma monoica (Ming et al., 2007).

O mamoeiro é a única espécie do gênero *Carica*, sendo também a mais conhecida e de maior importância econômica dentro da família (Van Droogenbroeck et al., 2002), apresentando cultivo amplamente difundido pelas regiões tropicais e subtropicais ao redor do mundo, sendo também de grande relevância para o agronegócio brasileiro, que, nos últimos anos, se tornou um dos líderes na produção de mamão (FAO, 2011), alcançando, em 2011, uma produção de 1 milhão e 900 mil toneladas, representando 17% da produção mundial (AGRIANUAL, 2011).

Seu germoplasma apresenta muitas características de importância agronômica, incluindo tamanho e forma do fruto, cor da polpa, sabor e teor de sólidos solúveis, comprimento do período juvenil, estatura da planta, entre outros (Kim et al., 2002).

Entretanto, apesar da expressiva produtividade e da posição de destaque no cenário internacional (Nehmi et al., 2002), existe uma restrita variabilidade genética nos campos de produção de mamão, sendo os plantios comerciais constituídos basicamente por três principais variedades: Sunrise Solo, Golden e o híbrido Tainung nº1. Isso limita a expansão da cultura e gera vulnerabilidade ao ataque de pragas e doenças. Diante dessa situação, os programas de melhoramento do mamoeiro têm direcionado esforços para a ampliação da base genética dessa cultura, buscando desenvolver variedades e/ou híbridos resistentes ou tolerantes a pragas, doenças e variações ambientais, além de agronomicamente superiores. De maneira geral, os programas de melhoramento têm como finalidade desenvolver variedades e híbridos competitivos e adaptados às condições ambientais do país, agregando características morfoagronômicas desejáveis tais como boa firmeza da polpa, alto teor de sólidos solúveis, redução da ocorrência de deformação de flores e de esterilidade feminina, alta produtividade, entre outras.

A ocorrência da mancha fisiológica tem comprometido a qualidade do mamão produzido no Brasil. A obtenção de genótipo tolerante faz parte das estratégias de ação de médio a longo prazo para minimizar os prejuízos decorrentes desse distúrbio (Gomes Filho et al., 2008). A cultivar 'Golden', selecionada e introduzida pela empresa Caliman Agrícola S/A, no município de Linhares, ES, é descrita por Marin e Gomes (2000) como tolerante a tal distúrbio. De acordo com os autores, essa cultivar apresenta frutos e plantas de coloração verde-clara e acentuadamente aclorofilada, com produtividade inferior à dos demais cultivares do grupo 'Solo'. Contudo, sua casca é bastante lisa e muito tolerante à mancha fisiológica do mamoeiro, tornando-a de maior aceitação no mercado internacional (Marin, 2002).

Diante desse cenário, é essencial, nos estudos de variabilidade e divergência genética, a quantificação do grau de dissimilaridade genética entre gêneros, espécies, subespécies, populações e materiais elite melhorados tanto para a genética de populações (Reif et al., 2005) quanto para o sucesso de

programas de melhoramento que visam ao desenvolvimento de cultivares (Máric et al., 2004). Também, estes estudos proporcionam um melhor entendimento da organização do germoplasma e aumenta a eficiência na amostragem de genótipos. O conhecimento da distância genética também permite a escolha de cruzamentos mais promissores (Vieira et al., 2007; Bertan et al., 2009), resultando na obtenção de progênies segregantes com alta variabilidade genética para a seleção (Máric et al., 2004). Essa variabilidade genética disponível em populações segregantes é fundamental para programas de melhoramento, pois, além de aumentar a chance de identificar genótipos superiores, está diretamente relacionada ao ganho genético obtido pela seleção artificial. Os resultados das análises de diversidade também podem ser utilizados para recomendar novas cultivares quando a meta é ampliar a base genética de cultivares comerciais (Vieira et al., 2007).

A determinação da diversidade genética é realizada por meio da variação entre indivíduos, grupos de indivíduos ou entre populações e pode ser obtida por um método específico ou uma combinação de métodos a partir de diversos grupos de dados, que, frequentemente, envolvem medidas numéricas e distribuição em classes e, em muitos casos, combinações de variáveis e diferentes tipos (Mohammadi et al., 2004), como, por exemplo, variáveis quantitativas (altura da planta, peso do fruto, dias para o florescimento) e qualitativas (cor e formato do fruto, presença e ausência de uma característica e marcador molecular) (Gonçalves et al., 2009).

Para possibilitar a realização de inferências sobre a variabilidade genética das populações diversas, metodologias de análise de dados genéticos foram propostas ao longo dos anos. Uma metodologia sugerida por Gower em 1971 tem sido bastante empregada nos últimos tempos (Gower, 1971) e permite calcular a distância entre observações, considerando, simultaneamente, as medidas de variáveis categóricas e contínuas (Crossa e Franco, 2004). O algoritmo Gower provê uma matriz definida semipositiva, com valores compreendidos entre 0 e 1, fazendo-se necessária a padronização das variáveis utilizadas.

Nesse sentido, o objetivo do presente estudo foi estimar a distância genética entre e dentro de progênies de mamão derivadas de retrocruzamento, utilizando dados morfoagronômicos (características quantitativas, qualitativas e

binárias), com intuito de auxiliar na seleção de genótipos superiores para o avanço de geração por autofecundação e retrocruzamento.

### 3.1.4. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1.4.1. Material genético

Neste trabalho foram avaliadas primeiramente 123 plantas hermafroditas de mamoeiro pertencentes a sete progênies segregantes para característica Golden, conforme Tabela 1. Nestes materiais, foi praticada uma pré-seleção ou seleção branda, com base em características de maior importância para o melhoramento como altura inserção do primeiro fruto, firmeza do fruto e da polpa, conteúdo de sólidos solúveis (Brix) e produção.

Tabela 1 – Identificação de 123 genótipos segregantes pertencente à geração RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e três testemunhas (JS12, SS72/12 e Golden) avaliados no presente estudo

Indivíduo	Identificação	Indivíduo	Identificação
1	JS12	64	33RC1S1-18
2	SS72/12	65	33RC1S1-19
3	Golden	66	34RC1S1-1
4	30RC1S1-1	67	34RC1S1-2
5	30RC1S1-2	68	34RC1S1-3
6	30RC1S1-3	69	34RC1S1-4
7	30RC1S1-4	70	34RC1S1-5
8	30RC1S1-5	71	34RC1S1-6
9	30RC1S1-6	72	34RC1S1-7
10	30RC1S1-7	73	34RC1S1-8
11	30RC1S1-8	74	34RC1S1-9
12	30RC1S1-9	75	34RC1S1-10
13	30RC1S1-10	76	34RC1S1-11
14	30RC1S1-11	77	34RC1S1-12
15	30RC1S1-12	78	34RC1S1-13
16	30RC1S1-13	79	34RC1S1-14
17	30RC1S1-14	80	34RC1S1-15
18	30RC1S1-15	81	34RC1S1-16
19	30RC1S1-16	82	34RC1S1-17
20	30RC1S1-17	83	34RC1S1-18
21	30RC1S1-18	84	34RC1S1-19
22	30RC1S1-19	85	34RC1S1-20
23	30RC1S1-20	86	34RC1S1-21
24	30RC1S1-21	87	36RC1S1-1
25	30RC1S1-22	88	36RC1S1-2
26	30RC1S1-23	89	36RC1S1-3
27	30RC1S1-24	90	36RC1S1-4
28	30RC1S1-25	91	36RC1S1-5
29	30RC1S1-26	92	36RC1S1-6
30	32RC1S1-1	93	36RC1S1-7
31	32RC1S1-2	94	36RC1S1-8
32	32RC1S1-3	95	36RC1S1-9
33	32RC1S1-4	96	37RC1S1-1
34	32RC1S1-5	97	37RC1S1-2
35	32RC1S1-6	98	37RC1S1-3
36	32RC1S1-7	99	37RC1S1-4
37	32RC1S1-8	100	37RC1S1-5
38	32RC1S1-9	101	37RC1S1-6
39	32RC1S1-10	102	37RC1S1-7
40	32RC1S1-11	103	37RC1S1-8
41	32RC1S1-12	104	37RC1S1-9
42	32RC1S1-13	105	37RC1S1-10
43	32RC1S1-14	106	37RC1S1-11
44	32RC1S1-15	107	37RC1S1-12
45	32RC1S1-16	108	37RC1S1-13
46	32RC1S1-17	109	37RC1S1-14
47	33RC1S1-1	110	38RC1S1-1
48	33RC1S1-2	111	38RC1S1-2
49	33RC1S1-3	112	38RC1S1-3
50	33RC1S1-4	113	38RC1S1-4
51	33RC1S1-5	114	38RC1S1-5
52	33RC1S1-6	115	38RC1S1-6
53	33RC1S1-7	116	38RC1S1-7
54	33RC1S1-8	117	38RC1S1-8
55	33RC1S1-9	118	38RC1S1-9
56	33RC1S1-10	119	38RC1S1-10
57	33RC1S1-11	120	38RC1S1-11
58	33RC1S1-12	121	38RC1S1-12
59	33RC1S1-13	122	38RC1S1-13
60	33RC1S1-14	123	38RC1S1-14
61	33RC1S1-15	124	38RC1S1-15
62	33RC1S1-16	125	38RC1S1-16
63	33RC1S1-17	126	38RC1S1-17

30, 32, 33, 34, 36, 37, 38 – Progênes segregantes de mamoeiro pertencentes à geração RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>

Posteriormente, foram avaliados somente 24 indivíduos possuidores da característica Golden (acrescentados dois indivíduos Golden não selecionados previamente), conforme Tabela 2. Foram incluídas em ambas as análises três testemunhas, as cultivares comerciais, 'JS12' (genitor recorrente), 'Golden' (genitor doador), e 'Sunrise Solo 72/12'. O diferente número de plantas em cada progênie se deve às perdas por fatores ambientais e outros fatores não controláveis.

As progênies segregantes de  $RC_1S_1$  avaliadas foram derivadas do cruzamento inicial entre o genótipo do grupo Formosa, o 'JS12' (genitor recorrente) e o genótipo do grupo Solo, o 'Golden' (genitor doador). Esse cruzamento teve como finalidade transferir para o genótipo JS12 um dos parentais da cultivar 'Calimosa', a característica Golden, que parece estar associada à tolerância à mancha fisiológica do mamoeiro (Marin et al., 2002), além de permitir uma fácil e rápida identificação dos genótipos com a característica no campo. Ao que tudo indica, o gene responsável por essa característica é recessivo, e, portanto, o genitor recorrente é dominante em relação ao caráter 'Golden' (Figura 1).

Os genótipos foram avaliados com base em características morfoagronômicas (variáveis quantitativas, qualitativas e binárias), descritas no item 3.1.4.3.

Tabela 2 - Identificação de 24 indivíduos com a característica Golden provenientes da geração RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> (acrescidos indivíduos da progênie 31RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> não selecionados previamente) e três testemunhas utilizados nas análises das coordenadas principais (PCA)

<b>Indivíduos</b>	<b>Identificação dos genótipos Golden</b>
1	JS12
2	SS72/12
3	Golden
4	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -1
5	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -5
6	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -6
7	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -10
8	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -16
9	31RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -10
10	31RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -21
11	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -1
12	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -8
13	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -14
14	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -18
15	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -19
16	34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -2
17	34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -3
18	34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -4
19	34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -16
20	34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -21
21	37RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -7
22	37RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -10
23	37RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -14
24	38RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -7
25	38RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -9
26	38RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -11
27	38RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -12

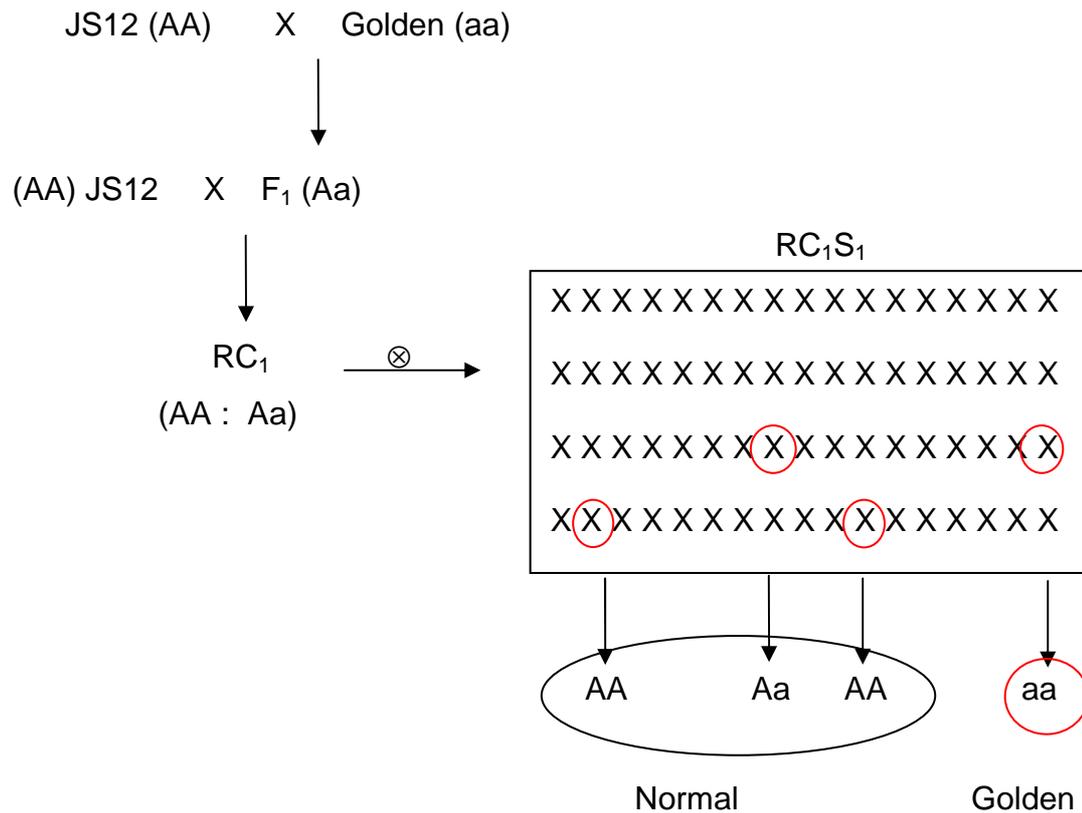


Figura 1 – Descrição do cruzamento e obtenção das progênes segregantes pertencentes à geração RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>

#### 3.1.4.2. Local e delineamento experimental

O experimento foi instalado em junho de 2009 na área comercial da empresa Caliman Agrícola S/A (Fazenda Romana), localizada no município de Linhares, no Estado do Espírito Santo. Foi utilizado o delineamento em blocos ao acaso com 19 tratamentos (16 pertencentes a RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e três testemunhas), 4 repetições e 10 plantas por parcela, com espaçamento de 3,50 m entre fileira e de 1,50 m entre plantas na fileira. Do total de 760 plantas do experimento, em apenas 126 genótipos pertencentes a sete progênes segregantes e três testemunhas foram realizadas as avaliações das variáveis morfoagronômicas por apresentarem a segregação para a característica Golden gerada pela autofecundação, bem como pela perda de algumas plantas por doença e outros fatores não controláveis.

As adubações, o manejo, o controle de pragas e doenças e os tratamentos culturais utilizados seguiram os mesmos adotados nos plantios comerciais da empresa.

#### 3.1.4.3. Características morfoagronômicas avaliadas

Um total de trinta características morfoagronômicas foram mensuradas e utilizadas para analisar os indivíduos das progênies avaliadas no presente estudo. As avaliações foram realizadas conforme Silva et al. (2008), com algumas modificações:

##### i) Altura da planta (ALTP)

A altura da planta foi expressa e medida com uma régua, do nível do solo até o último par de folhas, respectivamente, aos 150 e 270 dias após o transplante das mudas.

##### ii) Altura da inserção do primeiro fruto (AIPF)

A altura da inserção do primeiro fruto foi expressa em cm e medida com uma régua do nível do solo até o ponto de inserção do primeiro fruto na axila foliar do mamoeiro 150 dias após o transplante.

##### iii) Diâmetro do caule (DC)

O diâmetro do caule foi medido a 10 cm do nível do solo, através do uso de paquímetro, aos 150 dias após o transplante (DAT), expresso em milímetros.

##### iv) Número de frutos totais por planta (NFT)

O número de frutos por planta foi obtido pela contagem do número total de frutos, aos 150 (NFT<sub>1</sub>), 180 (NFT<sub>2</sub>) e 270 (NFT<sub>3</sub>) dias após o transplante.

##### v) Número de frutos carpeloides (NFC)

O número de frutos carpeloides por planta foi obtido pela contagem do número de frutos deformados pela carpeloidia, aos 150 (NFC) e 270 (NFC<sub>2</sub>) dias após o transplântio.

vi) Número de frutos pentândricos (NFP)

O número de frutos pentândricos por planta foi obtido pela contagem do número de frutos deformados pela pentandria, aos 150 (NFP) e 270 (NFP<sub>2</sub>) dias após o transplântio.

vii) Número de frutos comerciais (NFCOM)

O número de frutos comerciais por planta foi obtido pelo número de frutos totais por planta, subtraindo-se do número de frutos carpeloides e pentândricos aos 180 (NFCOM) e 270 (NFCOM<sub>2</sub>) dias após transplântio.

viii) Número de nós sem fruto (NNSF)

Determinado pela contagem de nós onde não houve desenvolvimento de fruto (devido ao aborto da flor ou à reversão sexual) aos 180 (NNSF) e 270 (NNSF<sub>2</sub>) dias após transplântio.

ix) Produção total de frutos (PROD)

A produção total de frutos foi obtida pela multiplicação do número de frutos comerciais (NFCOM) pelo peso médio de frutos (PMF) por planta, expressa em quilogramas/planta (kg/pl). Esta avaliação foi feita aos 180 (PROD<sub>1</sub>) e 270 (PROD<sub>2</sub>) dias após o transplântio.

x) Peso médio dos frutos (PMF)

Expresso em gramas e feito em balança analítica em uma amostra de três frutos por planta.

xi) Comprimento do fruto (COMF)

As medidas de comprimento foram expressas em milímetros, realizadas a partir das dimensões longitudinais dos frutos, com a utilização de paquímetros, com uma amostra de três frutos por planta.

xii) Diâmetro do fruto (DIAMF)

O diâmetro do fruto expresso em milímetro, obtido pela medida da dimensão transversal dos frutos, com a utilização do paquímetro, em uma amostra de três frutos por planta.

xiii) Firmeza interna da polpa (FI) e firmeza externa do fruto (FE)

A firmeza do fruto foi avaliada utilizando o aparelho denominado Penetrômetro de Bancada (*Fruit Pressure Tester*, Italy, Modelo 53205) com adaptador de 3,0 x 3,0 cm (altura x diâmetro). A firmeza externa foi medida pela perfuração em três pontos equidistantes na região equatorial do fruto, e a firmeza interna foi medida também pela perfuração de três pontos equidistantes na região equatorial, porém, na parte interna do fruto. Os resultados são expressos em N (Newton).

xiv) Teor de sólidos solúveis (°BRIX)

O teor de sólidos solúveis foi expresso em °Brix, obtido pelo uso de um refratômetro portátil Atago N1, em uma amostra de três frutos por planta, no estágio 1 de maturação.

xv) Espessura média da polpa do fruto (ESP)

A espessura média da polpa dos frutos foi expressa em milímetros e determinada pela média de duas medidas (espessura maior e menor) após corte transversal do fruto.

xvi) Diâmetro da cavidade interna (DIAMCAV)

Foi obtido pelas medidas da espessura maior menos a espessura menor, e resultado, multiplicado por dois.

xvii) Produtividade total por planta (PRODT)

A produtividade total foi obtida pela soma das  $PROD_1$  e  $PROD_2$ , expressa em kilograma/planta.

xviii) Índice de ocorrência da pinta preta (Pi)

A incidência da pinta preta foi mensurada por meio de uma análise subjetiva, atribuindo-se notas para a incidência, em uma escala de 0 (nenhuma pinta) até 5 (para muito alta ocorrência da pinta), de acordo com Oliveira et al. (2005).

xix) Índice de ocorrência da Mancha Fisiológica do Mamoeiro (MFM)

A incidência da mancha fisiológica do mamoeiro foi mensurada por meio de uma análise subjetiva, atribuindo-se notas para a incidência, em uma escala de 0 (nenhuma mancha) até 5 (para muito alta ocorrência da mancha), de acordo com Oliveira et al. (2005).

xx) Formato da cavidade central do fruto (FCavF)

Mensurado mediante comparação com formatos constantes, de acordo com catálogo de germoplasma de mamão desenvolvido pela Embrapa Madioca e Fruticultura, escala de notas em que 1 (irregular); 2 (arredondada); 3 (angular); 4 (formato aproximado ao estrela); e 5 (estrela).

xxi) Coloração da casca do fruto (CCascaF)

Essa é uma característica binária e diferenciou especificamente plantas que segregaram para a característica Golden (nota 0) e plantas normais (nota 1).

## 3.1.4.4. Análise dos dados

Inicialmente, todas as características morfoagronômicas foram submetidas à análise de variância (ANOVA), com exceção da característica cor da casca do fruto (CorCasc) e estimação dos parâmetros genéticos, a fim de verificar a existência de variabilidade genética significativamente entre os genótipos. A fonte de variação 'progênie' foi considerada de efeito aleatório (Quadro 1).

Quadro 1 – Esquema da análise de variância das características morfoagronômicas avaliadas nas gerações segregantes, com as esperanças matemáticas dos quadrados médios.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>(E)QM</b>	<b>F</b>
Bloco	r-1	QMB	$\sigma^2d + p\sigma^2 + pg \sigma^2b$	QMB/QMR
Progênie	f-1	QMG	$\sigma^2d + p\sigma^2 + pr \sigma^2g$	QMG/QMR
Erro	(r-1)(f-1)	QMR	$\sigma^2d + p\sigma^2$	
Plt/progênie	fr(p-1)	QMP	$\sigma^2d$	

Em que:

r : número de repetições (blocos);

f : número de tratamentos (ou progênies);

p : número de plantas por parcela;

$\sigma^2d$  : componente de variância de plantas dentro do tratamento;

$\sigma^2g$  : componente de variância genotípica;

$\sigma^2$  : componente de variância residual de parcela.

Os dados morfoagronômicos (quantitativos, qualitativos e binários) também foram submetidos à análise de divergência genética, utilizando-se como método de dissimilaridade a distância de Manhattan, pela qual foi obtida a matriz de distância.

A análise de dissimilaridade genética também foi realizada considerando os mesmos dados morfoagronômicos tanto para todos os cento e vinte e seis indivíduos inicialmente, e a seguir em somente os vinte e sete indivíduos que apresentaram a característica Golden. Para tanto, a estimativa da matriz de

distância genética foi obtida com base no índice de similaridade proposto por Gower (1971).

As análises multivariadas foram implementadas utilizando-se as técnicas de agrupamento hierárquicos, com base nos métodos UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Using an Arithmetic Average*). O ajuste entre a matriz de distância e a matriz cofenética foi estimado pelo coeficiente de correlação cofenética (CCC) (Sokal e Rolf, 1962) e para a estimativa da significância das correlações entre as matrizes, foi utilizado o teste de Mantel (Mantel, 1967) com 1000 permutações.

O programa estatístico SAS (*Statistical Analyses System Release 6.12*) foi utilizado para a análise de variância (ANOVA) e estimação dos parâmetros genéticos. O programa R (*R Development Core Team, 2006*) foi utilizado para análise da distância genética (dados morfoagronômicos) e para a estimação do coeficiente de correlação cofenética. Os agrupamentos hierárquicos foram feitos com o auxílio do programa MEGA versão 5 (Kumar et al., 2009), e a dispersão gráfica, pelo método da Análise das Coordenadas Principais (PCA), utilizando o programa Genalex 6.3 (Peakall e Smouse, 2009).

#### 3.1.4.5. Parâmetros genéticos

Com base nas análises de variância de cada característica, foram obtidas as estimativas de variância e demais parâmetros genéticos. Os parâmetros estimados foram:

i) Variância fenotípica ( $\hat{\sigma}_f^2$ )

$$\hat{\sigma}_f^2 = \frac{Q M G}{pr}$$

ii) Variância genotípica ( $\hat{\sigma}_g^2$ )

$$\hat{\sigma}_g^2 = \frac{Q M G - Q M R}{pr}$$

iii) Variância residual ( $\hat{\sigma}_e^2$ )

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

iv) Herdabilidade ( $h^2$ )

$$h^2 = \frac{QMG - QMR}{QMG}$$

v) Coeficiente de variação genotípica ( $\hat{CV}_g$ )

$$\hat{CV}_g = \frac{100 \times \sqrt{\hat{\sigma}_g^2}}{\hat{m}}$$

vi) Coeficiente de variação experimental ( $\hat{CV}_e$ )

$$\hat{CV}_e = \frac{100 \times \sqrt{\hat{\sigma}_e^2}}{\hat{m}}$$

vii) Índice de variação (Iv)

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

### 3.1.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Detectou-se variabilidade fenotípica entre os genótipos de mamão com base nas características morfoagronômicas (Tabela 3). O diâmetro do caule (DC) foi avaliado aos 150 DAT, tendo os valores médios para esta característica apresentado variação de 62,1 a 70,1 mm, e as testemunhas 'JS12', 'SS72/12' e 'Golden' apresentado, respectivamente, valores de 63,8, 65,4 e 66,6 mm. Segundo Ueno et al. (2002), plantas de mamoeiro mais vigorosas, com maior

enfolhamento e tronco com maior diâmetro dentro de uma mesma área, apresentaram menor intensidade de mancha fisiológica.

Para a característica altura da inserção do primeiro fruto (AIPF), todas as progênies segregantes apresentaram, em média, valores abaixo do encontrado para a testemunha Golden (112,0 cm). Esse resultado indica precocidade, já que quanto menor o valor obtido para essa característica mais precocemente a planta começa a produzir frutos, o que é interessante para o melhoramento por permitir a seleção de genótipos superiores, mais produtivos em menor tempo. Esse caráter é de grande importância econômica, pois em plantas mais baixas a prática de colheita é facilitada, permitindo a ampliação do seu período.

Tabela 3 – Médias gerais de 28 características morfoagronômicas avaliadas em sete progênie segregantes e três testemunhas de mamoeiro

Progênie	Características Avaliadas														
	DC	AIPF	ALTP	NFT	NFT <sub>2</sub>	NFC	NFP	NNSF	NFCOM	PROD <sub>1</sub>	ALTP <sub>2</sub>	NFT <sub>3</sub>	NFC <sub>2</sub>	NFP <sub>2</sub>	NNSF <sub>2</sub>
JS12	63,8	78,5	157	4,2	13,1	0,8	0	6,6	12,3	4,5	216	24,3	0,8	0,0	10,2
SS72/12	65,4	99,8	167,7	7,5	19,7	1,3	0,3	6,4	18,2	3,2	223,9	31,1	2,2	0,5	8,4
Golden	66,6	112,0	168,4	3,0	15,6	1,3	0,3	6,8	14,0	1,1	238,8	32,8	1,3	0,2	11,7
30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	70,0	100,2	180,4	7,0	13,0	0,7	0,7	11,7	11,7	9,8	242,9	18,7	1,2	0,5	15,6
32RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	70,1	88,8	171,8	5,3	10,4	0,2	0,1	8,6	10,1	6,7	232,1	22,2	0,4	0,1	16,5
33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	67,2	80,8	168,6	9,0	20,8	0,9	0,4	7,0	19,5	9,6	213,7	25,7	1,1	0,3	12,0
34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	65,2	93,8	169,5	5,4	16,0	1,4	0,5	12,6	14,0	6,2	236,2	30,2	3,4	1,5	7,7
36RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	66,8	84,6	173,2	7,9	17,9	1,4	0,5	7,4	16,0	8,6	229,5	25,4	3,2	1,2	12,7
37RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	62,1	87,9	171,8	7,5	13,5	1,4	0,4	7,2	11,8	10,6	243,2	21,2	1,9	1,1	15,3
38RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	68,3	91,2	164,7	5,4	11,2	0,5	0,1	5,6	10,6	4,7	205,9	16,3	0,7	0,0	15,6

Progênie	Características Avaliadas														
	NFCOM <sub>2</sub>	PROD <sub>2</sub>	PF	COMPF	DIAMF	FE	FI	BRX	ESP	DIAMCAV	PRODT	Pi	MFM	FCAVF	CCF
JS12	23,5	25,6	599,4	230,7	72,1	107,0	77,4	9,3	20,7	30,8	30,2	0,0	0,4	2,5	1
SS72/12	28,4	11,6	219,8	114,2	64,6	93,5	71,4	10,3	16,2	32,2	14,8	0,1	0,2	3,4	1
Golden	31,3	11,7	205,4	109,7	64,1	97,7	73,5	10,3	16,3	31,5	12,8	0,0	0,0	3,4	0
30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	17,0	23,0	709,8	202,7	88,5	108,1	84,4	10,7	23,6	41,2	32,9	0,1	1,0	2,9	0
32RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	21,8	26,6	592,8	184,3	79,8	116,7	89,9	10,7	21,8	36,2	33,3	0,2	1,0	2,4	1
33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	24,3	24,3	518,9	204,5	77,7	109,1	84,9	11,0	20,8	36,0	33,9	0,1	0,1	3,1	0
34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	25,3	27,6	584,7	194,6	80,7	113,5	89,5	9,9	21,6	37,5	33,7	0,0	0,3	3,1	0
36RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	21,0	22,9	581,1	208,2	75,7	114,4	88,8	11,0	20,0	35,8	31,5	0,0	0,4	2,6	0
37RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	18,3	22,4	639,0	207,3	77,0	105,5	83,2	10,1	20,7	35,5	32,9	0,1	0,5	2,4	0
38RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	15,6	14,7	494,6	190,6	69,9	105,0	82,1	10,9	19,0	31,9	19,4	0,0	0,5	2,2	0

DC = Diâmetro do caule em mm aos 150 DAT; AIPF = altura da inserção do primeiro fruto em mm aos 150 DAT; ALTP = altura da planta em cm aos 150 DAT;; NFT= número de frutos totais aos 150 DAT; NFT<sub>2</sub>= número de frutos totais aos 180 DAT; NFC= número de frutos carpeloides aos 150 DAT; NFP= número de frutos pentândricos aos 150 DAT; NNSF= número de nós sem fruto aos 180 DAT; NFCOM= número de frutos comerciais por planta aos 180 DAT; PROD<sub>1</sub>= Produção total de frutos aos 180 DAT; ATLP<sub>2</sub>= altura da planta em cm aos 270 DAT; NFT<sub>3</sub>= número de frutos totais aos 270 DAT; NFC<sub>2</sub>= número de frutos carpeloides aos 270 DAT; NFP<sub>2</sub>= número de frutos pentândricos aos 270 DAT; NNSF<sub>2</sub>= número de nós sem fruto aos 270 DAT ; NFCOM<sub>2</sub>= número de frutos comerciais por planta aos 270 DAT; PROD<sub>2</sub>= produção total de frutos aos 270 DAT; PF= peso médio dos frutos em g; COMPF= comprimento do fruto em mm; DIAMF= diâmetro do fruto em mm; FE=firmeza externa do fruto em N, FI=firmeza da cavidade interna do fruto em N; °BRX=teor de sólidos solúveis em °Brix; ESP=espessura da polpa em mm; DIAMCAV=diâmetro da cavidade interna em cm; PRODT=PROD<sub>1</sub> +PROD<sub>2</sub> EM Kg/pl; Pi=índice de ocorrência da pinta preta em escala de 0 a 5; MFM=índice de ocorrência da mancha fisiológica do mamoeiro em escala de 0 a 5; FCAVF= Formato da cavidade central do fruto em escala de 1 a 5; CCF= nota 1 para frutos de coloração normal e 0 para frutos Golden.

Uma ampla variabilidade entre e dentro das progênies avaliadas foi encontrada para a característica número de frutos totais para as três épocas avaliadas 150, 180 e 270 dias após transplântio (NFT, NFT<sub>2</sub> e NFT<sub>3</sub>). A progênie 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> foi a que mostrou em média valores mais baixos para número de frutos totais para as três épocas avaliadas. A maioria das progênies apresentou em média acima de 20 frutos. Quando se considerou o número de frutos deformados, como frutos carpeloides (NFC) e pentândricos (NFP), a característica NFC variou mais do que a NFP nas progênies avaliadas. Estas duas características juntamente com o número de frutos totais estão diretamente relacionadas à produtividade, pois elas devem ser subtraídas do número de frutos totais para obter as estimativas da produtividade (PROD<sub>1</sub>, PROD<sub>2</sub>, PRODT). Essas três características apresentaram ampla variabilidade, sendo observada uma amplitude de variação de 1,1 a 33,9 (Kg/planta).

Tanto as progênies como os indivíduos com a característica Golden dentro das progênies avaliadas, em relação à característica PRODT, foram significativamente superiores ao 'Golden' (média 12,8 kg/planta), uma das cultivares mais plantadas nas regiões produtoras de mamão, como o Espírito Santo. Tais características - PROD<sub>1</sub>, PROD<sub>2</sub>, PRODT - são de importância ímpar para o melhoramento já que se tratam de características altamente desejáveis e favoráveis à seleção de genótipos superiores. Em trabalho semelhante, Silva et al. (2008) também verificaram que, para a característica produtividade, todos os tratamentos segregantes de mamão avaliados foram significativamente superiores à cultivar mais plantada no Espírito Santo, a Golden.

Em relação às características relacionadas à qualidade do fruto, a variável peso do fruto (PF) permitiu observar uma amplitude de variação de 494,6 g a 709,8 g entre as progênies segregantes, com valores bem diferentes dos encontrados geralmente para o Calimosa, que variam de 800 a 1000 g. Esse resultado já era esperado haja vista que as progênies avaliadas são provenientes de um cruzamento inicial entre um genitor do grupo Formosa, o JS12, e outro genitor do grupo Solo, o Golden. Diante dessas informações, observou-se que as progênies apresentaram frutos com valores de peso com uma variação entre os dois genitores, ou seja, apresentaram frutos tendendo ao tamanho e peso dos frutos do genitor recorrente (JS12), porém com a característica Golden.

As características comprimento do fruto (COMPF) e diâmetro do fruto (DIAMF) variaram nas progênies segregantes em média de 190,6 a 208,2 mm e 69,9 a 88,5 mm, respectivamente. Quanto à firmeza do fruto (FE) e à firmeza da polpa (FI), apresentaram uma discreta variação com valores entre 105,0 e 114,4 mm para FE e 82,1 a 89,9 mm para FI. Apesar de moderados valores encontrados para essas duas características, as progênies possuíam em geral valores para firmeza do fruto e da polpa superiores aos apresentados pelas testemunhas, sendo que a resposta à seleção pode ser favorável, indicando um alto progresso genético. A firmeza é um fator importante para seleção de genótipos superiores juntamente com a produtividade e o teor de sólidos solúveis totais (° BRIX). Em relação ao teor de sólidos solúveis, °BRIX, foram registrados frutos em média com valores 9,9 a 11,0, tendo a progênie 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> obtido maior valor para tal característica. Foram observados para todas as progênies avaliadas valores superiores às testemunhas (superiores a 10,0 °Brix), indicando frutos com sabor doce, característica interessante para o melhoramento do mamoeiro e para mercado consumidor. De acordo com estudo desenvolvido por Gonçalves et al. (2010), estimando a divergência genética entre 56 acessos de *Capsicum chinense* utilizando 44 descritores morfoagronômicos, 37 qualitativos e 7 quantitativos baseado no algoritmo Gower, verificaram variabilidade fenotípica entre os acessos de pimenta principalmente para tamanho, formato e coloração dos frutos e teores de sólidos solúveis.

Os indivíduos das progênies ainda foram avaliados quanto à incidência de duas doenças de grande importância para a cultura do mamão: pinta preta (Pi) e a mancha fisiológica do mamoeiro (MFM). Com relação à Pi, em média não houve variação entre e dentro das progênies avaliadas. Já em relação à incidência da MFM, houve uma moderada variação média entre e dentro das progênies, tendo sido encontrados valores variando de muito baixa ocorrência (0) a alta ocorrência (1) do distúrbio, de acordo com a escala proposta por Gomes Filho et al. (2006). De acordo com as avaliações realizadas, as progênies avaliadas apresentaram tolerância à MFM. Diversos pesquisadores têm relatado que a MFM deprecia a aparência externa dos frutos, prejudicando o comércio interno e, principalmente, a exportação, e com isso, a preocupação em melhorar a classificação e padronização do fruto comercializado, visando a melhores preços e obtenção de novos mercados consumidores. Nesse intuito, fazem-se necessárias novas

pesquisas e ações que visem a minimizar a ocorrência desse distúrbio na cultura do mamoeiro (Kaiser et al., 1996; Oliveira et al., 2005; Gomes Filho 2008).

Uma das características mais importantes para identificação e seleção de genótipos superiores neste experimento foi a cor da casca do fruto (CCascaF), que indica se o material avaliado possuía a característica Golden (0) ou normal (1) (Figura 2). De acordo com Marin (2002), a característica Golden confere aos frutos e plantas uma coloração verde-clara e acentuadamente aclorofilada, sua casca é bastante lisa e muito tolerante à mancha fisiológica do mamoeiro, o que o torna, atualmente, o de maior aceitação no mercado internacional. De posse dessas informações, as progênies 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 32RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 36RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> apresentaram a característica Golden, sendo essas as progênies candidatas ao avanço de gerações de retrocruzamento e autofecundação.

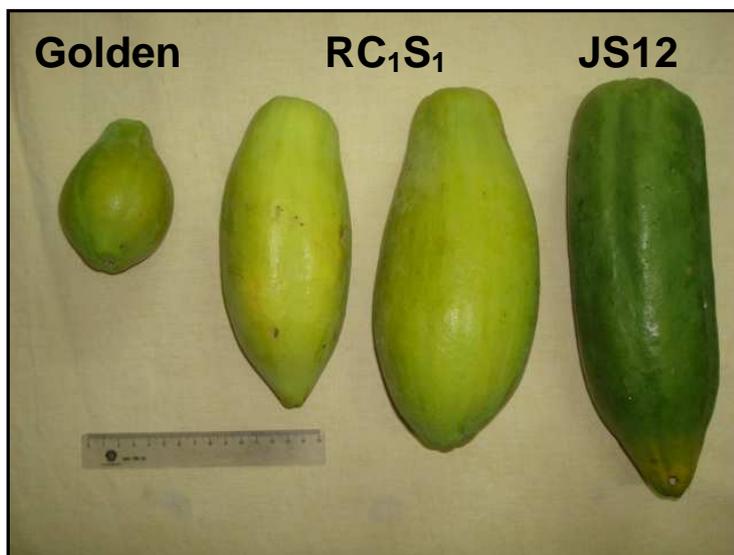


Figura 2 – Identificação da característica Golden (CCascaF) observadas em frutos de indivíduos avaliados neste estudo

A análise de variância para as características morfoagronômicas avaliadas apresentou diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F, exceto para Pi e ESPP.

As estimativas de alguns parâmetros genéticos importantes para o melhoramento são apresentadas na Tabela 4. De acordo com Cruz e Carneiro (2003), a utilização de parâmetros genéticos no melhoramento de plantas possibilita identificar a variabilidade genética de uma população e avaliar a eficiência de diferentes estratégias de melhoramento para obtenção de ganhos genéticos e manutenção de uma base genética adequada.

O coeficiente de variação genotípica (CVg) auxilia a definir com maior precisão as estratégias de melhoramento, além de permitir a comparação da variabilidade genotípica das diferentes características. O CVg apresentou para a maioria das características valores moderados a altos (acima de 30%), com exceção da característica NFCOM<sub>2</sub>, conforme apresentada na Tabela 4. Os maiores valores encontrados para CVg foram para as características PROD<sub>1</sub> e MFM. Tais resultados sugerem que há possibilidade de ganhos expressivos no processo de seleção, principalmente ao que se refere à produtividade e incidência da mancha fisiológica do mamoeiro, duas características de grande importância neste trabalho, pois permitirão a identificação de genótipos mais produtivos e portadores do gene que confere a característica Golden e, conseqüentemente, a tolerância à MFM.

Componentes de variância genotípica são causados por diferenças genéticas entre os indivíduos, portanto, um valor elevado de tal componente mostra uma ampla variabilidade genética, o que é interessante para identificação de genótipos superiores em programas de melhoramento, como, por exemplo, a identificação de genótipos para avanço de gerações (RC<sub>2</sub> e S<sub>2</sub>).

Tabela 4 – Estimativa dos parâmetros genéticos em progênies segregantes de mamoeiro.

Característica	QMG	QMR	Média	CV <sub>e</sub> (%)	CV <sub>g</sub> (%)	h <sup>2</sup> (%)	I <sub>v</sub>
DC	316,6**	85,9	66,3	4,94	4,04	72,87	0,81
AIFP	3117,6**	358,4	93,1	7,19	9,97	88,50	1,38
ALTP	2499,4**	303,0	170,2	3,61	4,86	87,87	1,34
NFT	176,1**	22,6	6,0	27,85	36,27	87,15	1,30
NFT <sub>2</sub>	743,7**	69,7	13,4	22,00	34,20	90,62	1,55
NFC	8,8**	1,5	0,8	52,86	59,32	83,43	1,12
NFP	3,8**	1,3	0,3	127,04	85,80	64,59	0,67
NNSF	113,8**	25,6	8,6	20,78	19,27	77,47	0,92
NFCOM	602,6**	65,6	12,3	33,27	23,26	89,11	1,43
PROD <sub>1</sub>	1298,1**	528,8	8,7	56,68	93,99	59,26	0,60
ALT <sub>2</sub>	8199,2**	826,5	228,7	4,44	6,63	89,92	1,49
NFT <sub>3</sub>	2017,7**	107,9	20,5	17,89	37,65	94,65	2,10
NFC <sub>2</sub>	25,8**	2,6	1,3	63,45	42,78	89,79	1,48
NFP <sub>2</sub>	12,2**	5,3	0,7	114,21	64,95	56,40	0,56
NNSF <sub>2</sub>	566,7**	60,7	15,2	18,137	26,17	89,28	1,44
NFCOM <sub>2</sub>	95,0**	1567,9	18,7	75,00	0,0	0,0	0,0
PROD <sub>2</sub>	551,4**	145,4	19,0	22,38	18,70	73,63	0,83
PI	0,2	0,1	0,1	145,08	71,68	49,40	0,49
MFM	5682,3**	3567,6	0,6	314,34	121,00	37,21	0,38
PF	632762,0**	39469,2	511,4	13,73	26,62	93,76	1,93
COMPF	30242,0**	1388,4	178,6	7,37	16,81	95,40	2,27

Tabela 4 - Cont.

Característica	QMG	QMR	Média	CV <sub>e</sub> (%)	CV <sub>g</sub> (%)	h <sup>2</sup> (%)	I <sub>v</sub>
DIAMF	1268,0**	215,5	75,8	6,84	7,56	82,99	1,10
FE	2272,7**	599,1	103,3	8,37	6,99	73,63	0,83
FI	1760,9**	330,3	79,8	8,04	8,36	81,23	1,04
°BRIX	12,85**	4,8	10,3	7,52	4,79	61,89	0,63
ESPP	92,9 <sup>ns</sup>	58,5	20,2	92,25	35,38	37,04	0,38
DIAMCAV	157,4**	95,5	34,5	10,01	4,03	39,30	0,40
FCAVF	8,9**	3,5	3,0	22,04	13,73	60,80	0,62
PRODT	1174,7**	234,4	25,8	20,92	20,95	80,04	1,00

DC = diâmetro do caule em mm aos 150 DAT; AIPF = altura da inserção do primeiro fruto em cm aos 150 DAT; ALTP = altura da planta em cm aos 150 DAT; NFT= número de frutos totais aos 150 DAT; NFT<sub>2</sub>= número de frutos totais aos 180 DAT; NFC= número de frutos carpeloides aos 150 DAT; NFP= número de frutos pentândricos aos 150 DAT; NNSF= número de nós sem fruto aos 180 DAT; NFCOM= número de frutos comerciais por planta aos 180 DAT; PROD<sub>1</sub>= Produção total de frutos aos 180 DAT; ATLTP<sub>2</sub>= altura da planta em cm aos 270 DAT; NFT<sub>3</sub>= número de frutos totais aos 270 DAT; NFC<sub>2</sub>= número de frutos carpeloides aos 270 DAT; NFP<sub>2</sub>= número de frutos pentândricos aos 270 DAT; NNSF<sub>2</sub>= número de nós sem fruto aos 270 DAT; NFCOM<sub>2</sub>= número de frutos comerciais por planta aos 270 DAT; PROD<sub>2</sub>= produção total de frutos aos 270 DAT; Pi= índice de ocorrência da pinta preta em escala de 0 a 5; MFM=índice de ocorrência da mancha fisiológica do mamoeiro em escala de 0 a 5; PF= peso médio dos frutos em g; COMPF= comprimento do fruto em mm; DIAMF= diâmetro do fruto em mm; FE= firmeza externa do fruto em N, FI= firmeza da cavidade interna do fruto em N; °BRIX= teor de sólidos solúveis em °Brix; ESPP= espessura da polpa em mm; DIAMCAV=diâmetro da cavidade interna em mm; FCAVF= Formato da cavidade central do fruto em escala de 1 a 5; PRODT= Produtividade de frutos por planta em kg/pl.

Porém, o valor de CVg nulo encontrado em uma característica indica que a variância genotípica é nula e a variação encontrada é devida ao efeito ambiental.

Com relação ao coeficiente de variação experimental (CVe), as estimativas para a maioria das características avaliadas estão abaixo de 20%, indicando uma boa precisão experimental. Contudo, para algumas características, como NFC, NFP, PROD<sub>1</sub>, NFC<sub>2</sub>, NFP<sub>2</sub>, Pi, MFM, ESPP, as estimativas mostraram valores bastante elevados para CVe. Esse resultado sugere que o número de frutos carpeloides e pentândricos em duas épocas diferentes de avaliação, incidência de doenças, produção em uma época de avaliação e espessura da polpa são bastante influenciados por fatores ambientais como temperatura e umidade, por exemplo. Segundo resultados encontrados por Silva et al. (2008), algumas características do fruto como largura, comprimento, firmeza de polpa apresentam baixos valores de CVe, enquanto a contagem dos frutos (comerciais, carpeloides e pentândricos) apresenta CVe bastante elevado.

As estimativas dos parâmetros de herdabilidade, assim como o coeficiente de variação genotípica, também refletem uma situação favorável à seleção para a maioria das características avaliadas. Verifica-se que para quase todas as características, com exceção do número de frutos comerciais aos 270 DAT (NFCOM<sub>2</sub>), incidência da mancha fisiológica do mamoeiro (MFM), espessura da polpa (ESSP) e diâmetro da cavidade interna do fruto (DIAMCAV), que foram baixos, os valores de herdabilidade ( $h^2$ ) foram em média moderados a altos, acima de 50%. Os maiores valores para  $h^2$  foram observados para as características AIFP (88,50%), ALTP (87,87%), NFT (87,15%), NFT<sub>2</sub> (90,62%), NFC (83,43%), NFCOM (89,11%), ALTP<sub>2</sub> (89,82%), NFT<sub>3</sub> (94,45%), NFC<sub>2</sub> (89,79%), NNSF<sub>2</sub> (89,28%), PF (93,76%), COMPF (95,40%), DIAMF (82,99%) e PRODT (80,04%).

Essas estimativas encontradas para  $h^2$  refletem uma expectativa de ganhos genéticos elevados e possibilitam maior eficiência no processo seletivo. Ide (2009) observou altos valores de  $h^2$  para número de frutos por planta, considerados satisfatórios para o sucesso da seleção, visto essa característica ser um determinante para a produção.

De acordo com Faleiro et al. (2001), para que se tenha uma ideia real da situação de cada característica visando ao melhoramento, faz-se necessário analisar o CVg juntamente com o CVe, por meio da relação CVg/CVe, ou seja,

analisando o índice de variação ( $I_v$ ) de cada característica, que deve ser maior que a unidade, indicando presença de ampla variabilidade. Sendo assim, os valores obtidos para  $I_v$  variaram bastante, sendo que, para a maioria das características, eles se mostraram superiores à unidade, exceção para NFCOM<sub>2</sub>, MFM, ESPP e DIAMCAV, que foram muito baixos. Tal índice indica que a situação é altamente favorável à seleção para a maioria das características avaliadas, de acordo com Vencovsky (1987). No entanto, para, número de frutos comerciais aos 270 DAT a resposta à seleção pode não ser tão favorável, indicando limitado progresso genético. Em trabalho semelhante, Ide (2009) encontrou valores para  $I_v$  superiores à unidade para características como número de frutos por planta e peso médio dos frutos, e Ramos et al. (2011) encontraram valores para  $I_v$  variando de 0,35 a 6,51 e em análise por estação do ano foram encontrados valores de  $I_v$  entre 1,87 e 6,08 no inverno, 1,44 e 4,52 na primavera, 0,66 e 5,61 no verão e 0 e 1,82 no outono. Em outro trabalho desenvolvido em mamoeiro, Dias et al. (2011) encontraram que, para 63% das características avaliadas, a relação  $CV_g/CV_e$  foi maior do que a unidade, com destaque para características que influenciam diretamente a colheita.

A análise da divergência genética foi primeiramente feita para todos os 123 indivíduos pertencentes às progênies segregantes ( $RC_1S_1$ ) e às testemunhas pelo programa MEGA, a partir dos dados quantitativos, qualitativos e binários, tendo permitido a geração de um dendrograma circular (Figura 3). Os indivíduos com a característica Golden foram marcados no dendrograma para facilitar a visualização, exceto os indivíduos Golden da progênie 32 $RC_1S_1$ , que foram perdidos ao final do experimento pela ocorrência da doença meleira. Os indivíduos da progênie 31 $RC_1S_1$  não foram selecionados para esta avaliação devido a uma seleção branda realizada anteriormente.

O valor obtido para o coeficiente de correlação cofenética foi de 0,72, indicando um moderado ajuste entre as matrizes originais de distância e as derivadas das distâncias gráficas, ratificando a confiabilidade do agrupamento (Moura et al. 2010).



Foram formados no total 7 grandes grupos, o primeiro grupo (I) constituído por indivíduos das progênes 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 32RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>. Este grupo reuniu, além do genitor recorrente JS12, os indivíduos 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-5, 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-16, 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-7 e 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-21, portadores da característica Golden.

Assim sendo, tais indivíduos são fortes candidatos ao avanço de geração, pois possuem a característica de interesse (Golden) aliada aos demais atributos fenotípicos, e são mais próximos ao genitor recorrente de acordo com dendrograma. Os grupos II e IV foram constituídos apenas por indivíduos normais, ou seja, que não possuíam a característica Golden (CorCasca = 1) das populações 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 32RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 36RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>. O grupo III alocou um indivíduo Golden, 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-1, e indivíduos que não possuíam a característica Golden das progênes 32RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 36RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>.

O grupo V foi constituído pelos indivíduos Golden, 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-11, 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10, 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-16 e por indivíduos das progênes 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 32RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e 37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>. O grupo VI alocou o maior número de indivíduos com a característica Golden, além do genitor doador Golden. Isso indica que tais indivíduos Golden possuem uma maior proporção genômica do genitor doador. Os indivíduos Golden pertencentes a este grupo foram o 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-14, 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-19, 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-1, 37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-14, 37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10, 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-9, 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-4, 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-2 e 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-3.

O último grupo (VII) foi formado por indivíduos Golden mais distantes do genitor recorrente, porém mais próximos à testemunha do grupo Solo SS72/12. Foram estes os indivíduos 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-6, 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-18 e 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-8. Tais indivíduos, de acordo com o dendrograma, são mais similares ao SS72/12 e também mais próximos ao genitor doador, que, do mesmo modo, pertence ao grupo Solo.

A análise da divergência genética através do programa MEGA foi também realizada somente para os indivíduos com a característica Golden e as três testemunhas (JS12 – genitor recorrente; Golden – genitor doador e SS72/12), conforme mostra a Figura 4. De acordo com essa análise, foram formados sete grandes grupos, sendo que o primeiro grupo reuniu o genitor doador (Golden) e os indivíduos 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-14 e 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-19. Tais genótipos foram os mais próximos do genitor doador de acordo com as características morfoagronômicas avaliadas, como peso e comprimento do fruto, ou seja, possuindo pesos e tamanhos menores, bem parecidos com o genótipo Golden.

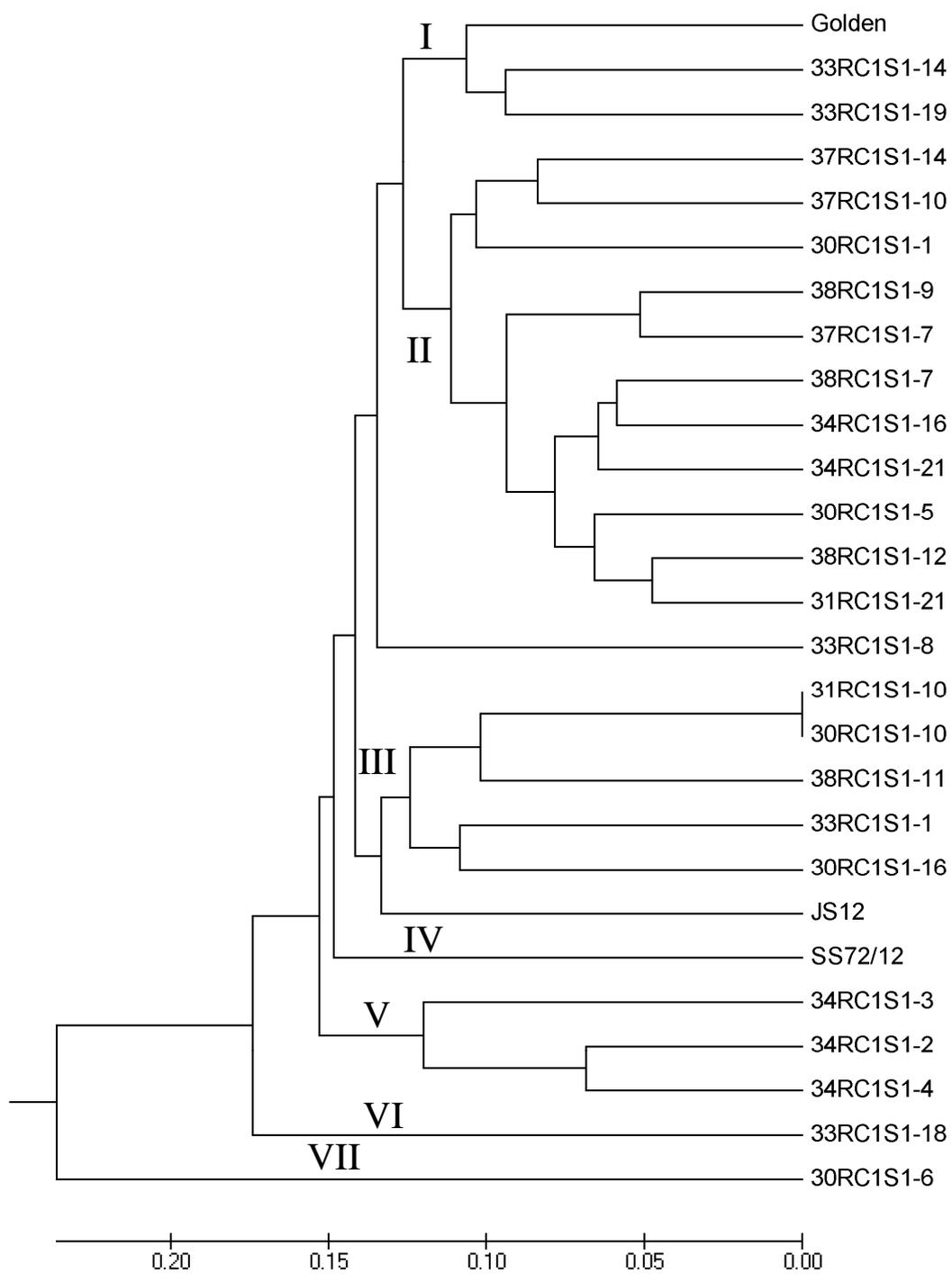


Figura 4 - Dendrograma UPGMA baseado na análise dos indivíduos com a característica Golden pertencentes a  $RC_1S_1$  utilizando a distância de Gower para análise dos dados contínuos e binários.

O grupo II reuniu o maior número de indivíduos, 12. São eles: 37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-14, 37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10, 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-1, 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-9, 37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-7, 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-7, 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-16, 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-21, 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-5, 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-12, 31RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-21 e 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-8.

O grupo III alocou o genitor recorrente (JS12) e os indivíduos 31RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10, 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10, 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-11, 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-1 e 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-16. Tais indivíduos são os prováveis candidatos selecionados ao avanço de geração, além de possuírem a característica Golden, são aqueles mais próximos e provavelmente com uma maior proporção genômica do genitor recorrente JS12.

O grupo IV alocou somente um genótipo e foi este a testemunha SS72/12, e o grupo V reuniu três indivíduos da mesma progênie segregante, o 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-3, 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-2 e 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-4.

Os grupos VI e VII alocaram somente um indivíduo cada grupo, 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-18 e 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-6, respectivamente.

Os indivíduos com a característica Golden, além de analisados através da divergência genética, também foram analisados a partir da dispersão gráfica baseada na análise da coordenada principal (PCA), conforme apresentada na Figura 5. As duas primeiras coordenadas juntas explicaram 57,3% da variação total dos dados: 33,8% dessa variação explicada pela coordenada 1 e 23,5%, pela coordenada 2. Tais valores, apesar de serem considerados moderados, indicam uma confiabilidade da dispersão apresentada. Verifica-se claramente uma separação entre indivíduos de progênies mais similares e dissimilares: os indivíduos pertencentes à mesma progênie foram agrupados ou dispersados mais próximos, como pode ser evidenciado pelas diferentes cores no gráfico, tendo a identificação de tais indivíduos sido apresentada anteriormente na Tabela 2.

Porém, tais resultados divergem um pouco daqueles obtidos pelo agrupamento a partir do método hierárquico UPGMA. Os indivíduos mais similares ao genitor recorrente, o JS12 (1), pertencem à progênie 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> mesmo resultado obtido pelo método UPGMA. Indivíduos das progênies 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e 31RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> também se mostraram mais similares ao genitor recorrente. Todos os indivíduos da progênie 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> foram mais similares ao genitor doador, Golden (3), diferindo do agrupamento obtido pelo UPGMA. As demais progênies foram mais similares à testemunha do grupo solo SS72/72 (2), indicando um resultado não esperado.

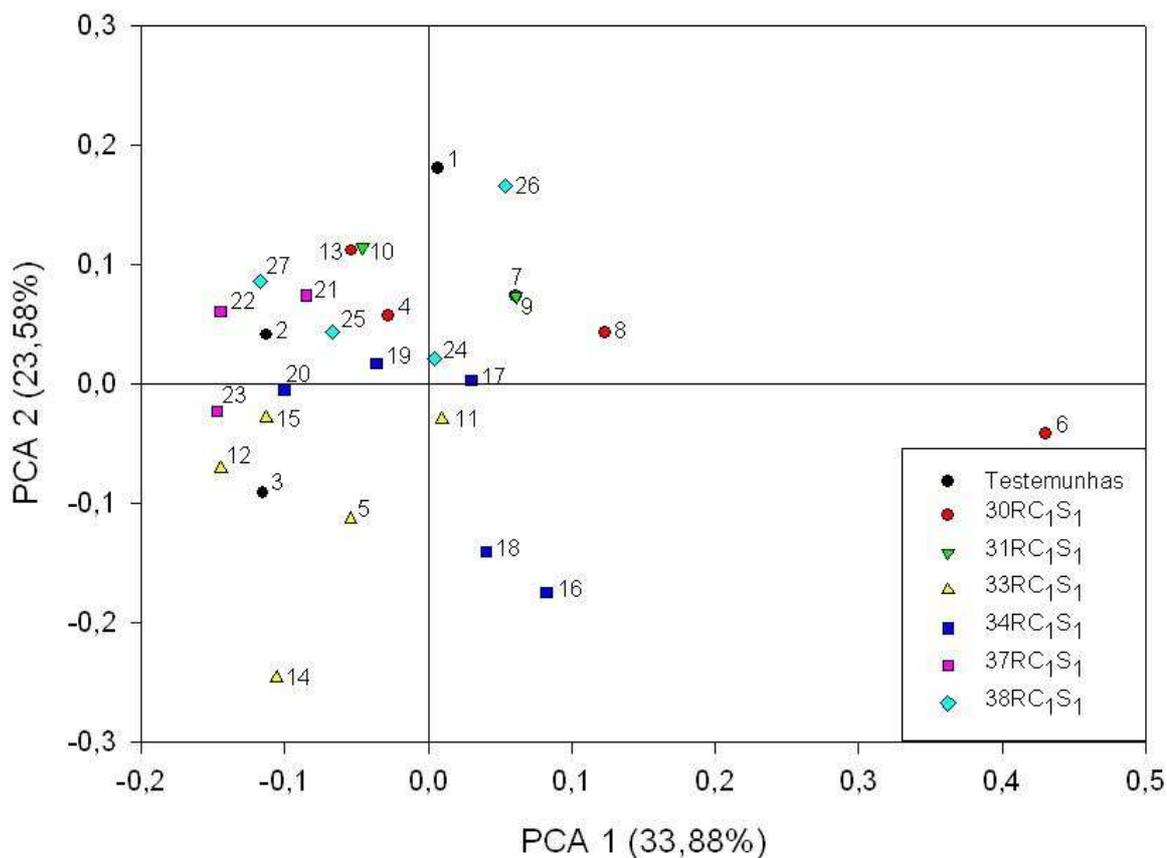


Figura 5 - Análise das Coordenadas Principais, considerando 24 indivíduos com a característica Golden (RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>) pertencentes a 6 progênies de mamão (RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), e três testemunhas (JS12 - genitor recorrente; Golden - genitor doador; SS72/12), com base na matriz de distância obtida pela análise dos dados morfoagronômicos (características qualitativas, quantitativas e binárias)

Quase todos os indivíduos pertencentes à progênie 33 RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> ficaram bem próximos ao genitor doador, enquanto o indivíduo 26 (38 RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-11) foi o mais próximo ao genitor recorrente, resultado similar ao encontrado pela análise da diversidade, seguido dos indivíduos 10 (31RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-21), 13 (33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-14), 7 (30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10), 8 (30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-16), 9 (31RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10), 24 (38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-7) e 17(34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-3), que mostraram mais próximos ao genitor recorrente.

De posse dos resultados obtidos pela formação de diferentes dendrogramas e análises de dispersão gráfica, três indivíduos possuidores da característica Golden, o 38 RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-11, 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10 e 31RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10, apresentaram-se como os genótipos mais promissores ao avanço de geração de autofecundação e retrocruzamento devido à presença do gene em questão e da

maior proporção genômica do genitor recorrente, além de possuírem bons atributos morfoagronômicos favoráveis à seleção. Os demais indivíduos que também possuem a característica em questão, possivelmente, contribuirão para este programa de melhoramento do mamoeiro, porém possivelmente serão submetidos a mais gerações para aumentar a proporção genômica do genitor doador e alcançar a estabilidade.

Contudo, com base nos resultados obtidos no presente trabalho, verifica-se que a aplicação do algoritmo Gower resultou em uma análise coerente quanto à discriminação das progênies avaliadas, gerando novas possibilidades para estudos de dissimilaridade genética. Isso indica o Gower como uma potencial ferramenta a ser empregada em estudos de dissimilaridade, não só para posteriores caracterizações, como também serão submetidos à análises em gerações avançadas no programa de melhoramento, possibilitando a realização de inferências mais acuradas e contribuindo para que seja mantida uma base genética adequada para o sucesso do programa de melhoramento conduzido na UENF.

### 3.1.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL (2011) Anuário da agricultura brasileira. Mamão. São Paulo: FNP, consultoria e Agroinformativos, p. 325-332.

Bertan, I.; Carvalho, F. I. F.; Oliveira, A. C.; Benin, G.; Vieira, E. A.; Valério, I. P. (2009) Morphological, pedigree and molecular distance and their association with hybrid wheat performance. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44: 155-163.

Crossa, J.; Franco, J. (2004) Statistical methods for classifying genotypes. *Euphytica*, 137: 19-37.

Cruz, C. D., Carneiro, P. C. S. (2003) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento de Plantas 2. UFV, Viçosa/MG. 585p.

- Dias, N. L. P.; Oliveira, E. J.; Dantas, J. L. L. (2011) Avaliação de genótipos de mamoeiro com uso de descritores agronômicos e estimação de parâmetros genéticos. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 46: 1471-1479.
- Faleiro, F. G.; Ragagnin, Antonio, V.; Moreira, M. A.; Barros, E. G. (2004) Use of molecular markers to accelerate the breeding of common bean lines resistant o rust and anthracnose. *Euphytica*, 138: 213-218.
- FAO (2011) Disponível em: [www.faostat.org.br](http://www.faostat.org.br) acesso em: 06 de junho de 2011.
- Gomes Filho, A., Oliveira, J. G., Viana, A. P., Pereira, M. G. (2008) Mancha fisiológica e produtividade do mamão tainung 01: efeito da lâmina de irrigação e cobertura do solo. *Ciência Agrotecnologia*, 32: 1161-1167.
- Gomes Filho, A.; Oliveira, J. G.; Viana, A. P.; Damasceno Júnior, P. C.; Pereira, M. G. (2006) Validação do método das notas para quantificação da incidência da mancha fisiológica do mamão através do uso de imagens digitais. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 28: 365-368.
- Gonçalves L. S.A.; Rodrigues, R; Amaral J. A. T.; Karasawa, M; Sudré, C. P. (2009) Heirloom tomato gene bank: assessing genetic divergence based on morphological, agronomic and molecular data using a Ward-modified location model. *Genetics and Molecular Research* 8: 364-374.
- Gonçalves L. S. A.; Rodrigues, R.; Sudré, C. P.; Bento, C. S.; Moulin, M. M.; Araújo, M. L.; Daher, R.F.; Pereira, T. N. S.; Pereira, M. G. (2010) Divergência genética em tomate estimada por marcadores RAPD em comparação com descritores multicategóricos. *Horticultura Brasileira* 26: 364-370.
- Gower, J. C. (1971). General coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics*, 27: 857-874.
- Ide, C. D.; Pereira, M. G.; Viana, A. P; Pereira, T. N. S. (2009) Use of testers for combining ability and selection of papaya hybrids. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 9: 60-66.

- Kim, M. S.; Moore, P. H.; Zee, F.; Fitch, M. M. M. Steiger, D.; Manshardt, R.; Paull, R.; Drew, R.; Sekioka, T.; Ming, R. (2002) Genetic diversity of *Carica papaya* as revealed by AFLP markers. *Genome*, 45: 503-512.
- Kumar, S.; Nei, M.; Dudley, J.; Tamura, K. (2009) MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Brief Bioinform*, 9: 299-306.
- Mantel, N. (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27: 857-874.
- Máric, S.; Bolaric, S.; Martincic, J.; Pejic, I.; Kozumplik, V. (2004) Genetic diversity of hexaploid wheat cultivars estimated by RAPD markers, morphological traits and coefficients of parentage. *Plant Breeding*, 123: 366-369.
- Marin, S. L. D; Pereira, M. G.; Yamanishi, O. K.; Ferregueti, G. A.; Martelleto, L. A. P., Ide, C. D. (2002) Habilidade Combinatória em mamoeiro (*Carica papaya* L.) Sob Cruzamento Dialélico Visando a Produção de Cultivares e Híbridos In Anais do Congresso Brasileiro de Fruticultura , 17. Resumos. Belém, PA, Jaboticabal: UNESP.
- Marin, S. L. D.; Gomes, J. A. (2000) Cultura do mamão. In: Semana Internacional de Fruticultura e Agroindústria, 7. Fortaleza: Instituto FRUTAL, 50p.
- Ming, R.; Yu, Q.; Moore, P.H. (2007) Sex determination in papaya. *Seminars in Cell and Development Biology*, 18: 401-408.
- Mohammadi, S. A.; Prasanna, B. M. (2003) Analysis of genetic diversity in crop plants – Salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43: 1235-1248.
- Moura, M. C. C. L; Gonçalves, L. S. A; Sudré, C. P; Rodrigues, R; Amaral Júnior, A. T; Pereira, T. N. S. (2010) Algoritmo de Gower na estimativa da divergência genética em germoplasma de pimenta. *Horticultura Brasileira*, 28: 155-161.

- Nehmi, I. M. D; Ferraz, J. V.; Nehmi Filho, V. A.; Silva, M. L. M. da (2002) Consultoria & Comércio 2002. In: AGRIANUAL 2003: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP, p.378-386.
- Oliveira J. G.; Pereira, M. G.; Martelleto, L. A. P.; Ide, C. D. (2005) Mancha fisiológica do mamão: uma perspectiva de obtenção de material genético tolerante. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 27: 458- 461.
- Peakall, R.; Smouse, P. (2009) GenAlex Tutorials – Part 1: Introduction to Population Genetic Analysis. Australian National University, Australia.
- Ramos, H. C. C.; Pereira, M. G.; Silva, F. F.; Viana, A. P; Ferregueti, G. A. (2011) Seasonal and genetic influences on sex expression in a backcrossed segregating papaya population. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* ,11: 97-105.
- Reif, J. C.; Melchinger, A. E; Frisch, M. (2005) Genetical and mathematical properties of similarity and dissimilarity coefficients applied in plant breeding and seed bank management. *Crop Science*, 45:1-7.
- SAS Institute INC. (1992) Statistical Analysis System. Release 6.12, (Software). Cary.
- Silva, F. F.; Pereira, M. G.; Ramos, H. C. C.; Damasceno Júnior, P. C.; Pereira, T. N. S.; Gabriel, A. P. C.; Viana, A. P.; Ferregueti, G. A. (2008) Selection and estimation of the genetic gain in segregating generations of papaya (*Carica papaya* L.). *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 8: 1-8.
- Sokal, R. R.; Rohlf, F.J. (1962) The comparison of dendrograms by objective methods. *Taxon*, 11: 33-40.
- Van Droogenbroeck, B.; Breyne, P.; Goetghebeur, P.; Romeijn-Peeters, E.; Kyndt, T.; Gheysen, G. (2002) AFLP analysis of genetic relationships among papaya and its wild relatives (Caricaceae) from Ecuador. *Theoretical and Applied Genetic*, 105: 289-297.

Venkovsky, R. (1987) Herança quantitativa. In: Paterniani E, Viegas GP (Ed.) *Melhoramento e produção do milho*. Campinas: Fundação Cargill, p.135-214.

Vieira, E. A; Carvalho, F. I. F.; Bertan, I.; Kopp, M. M.; Zimmer, P. D.; Benin, G.; Silva, J. A. G.; Hartwig, I.; Malone, G.; Oliveira, A. C. (2007) Association between genetic distances in wheat (*Triticum aestivum* L.) as estimated by AFLP and morphological markers. *Genetic and Molecular Biology*. 30: 392-399.

## 3.2. UTILIZAÇÃO DE MODELOS MISTOS PARA SELEÇÃO COMBINADA EM PROGÊNIES SEGREGANTES DE MAMOEIRO.

### 3.2.1. RESUMO

Apesar de o Brasil se destacar como um dos principais produtores mundiais de mamão, ainda existe um reduzido número de alternativas quanto à escolha de cultivares e uma restrita variabilidade genética observada nos plantios comerciais, em praticamente todas as regiões produtoras. Diante disso, faz-se necessário direcionar esforços para a identificação e seleção de genótipos superiores e ampliação da base genética da cultura. O presente trabalho objetivou aplicar o índice de seleção, bem como a seleção direta a partir da análise de 26 características morfoagronômicas, utilizando os modelos mistos, para identificar e selecionar genótipos agronomicamente superiores. O índice de seleção utilizado tanto com base nos valores genéticos obtidos pela metodologia REML/BLUP, quanto pelos valores reais mensurados (fenotípicos), foi construído atribuindo-se pesos às características. Os resultados da análise dos parâmetros genéticos indicam que as progênies avaliadas dispõem de variabilidade genética para as características consideradas, havendo possibilidades reais de progresso genético. Entre as 11 progênies indicadas como superiores, foram selecionadas 8 progênies possuidoras da característica Golden, sendo elas: 11 (30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), 13 (32RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), 14 (33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), 15 (34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), 16 (35RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), 19 (38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), 18 (37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>) e 12 (31RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>). Os genótipos selecionados dentro de tais progênies,

em média, tiveram valores superiores para ganho e média predita; as das testemunhas 'JS12', 'SS72/12' e 'Golden', para as características altura de inserção do primeiro fruto e firmeza da polpa e do fruto e produção. Assim, foram recomendados 20 indivíduos superiores, com a característica Golden, para o avanço de geração de autofecundação e retrocruzamento.

### 3.2.2. ABSTRACT

Although Brazil is remarkable as one of the World's main producer of papaya, there is still a small number of alternative cultivars and a limited genetic variability observed in commercial crops in almost all producer regions. Therefore, it is necessary to direct efforts towards the identification and selection of superior genotypes and expansion of the crop genetic basis. The present work aimed to apply the selection index as well as direct selection to the analysis of 26 agronomic characteristics using mixed models to identify and select agronomical superior genotypes. The selection index used was constructed by providing weight to features and it is based on both the values obtained by genetic methods REML/BLUP and the real measured values (phenotypic). The results of the analysis of genetic parameters suggest that the evaluated progenies have genetic variability for the considering traits, therefore, there are real possibilities of genetic progress. Among the eleven indicated progenies as superior, eight were selected having plants with the Golden characteristic, such as: 11 (30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), 13 (32RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), 14 (33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), 15 (34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), 16 (35RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), 19 (38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>); 18 (37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>) and 12 (31RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>). The selected genotypes within such progenies, on average, had higher values for gain and predicted mean than the checks (JS12, SS72/12 and Golden) for the traits: height of insertion of the first fruit, pulp and fruit firmness and production. Thus, 20 Golden individuals were recommended to the advancement of generation of selfing and backcross.

### 3.2.3. INTRODUÇÃO

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

Apesar de o Brasil se destacar como um dos principais produtores mundiais de mamão (Nehmi et al., 2002), ainda existe um reduzido número de alternativas quanto à escolha de variedades comerciais e uma restrita variabilidade genética observada nos plantios comerciais, em praticamente todas as regiões produtoras. Assim a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro vem conduzindo ao longo de alguns anos, um programa de melhoramento genético do mamoeiro na tentativa de mudar esse cenário (Marin et al., 2006; Silva et al., 2008; Damasceno Júnior et al., 2009; Ramos et al., 2011a). O objetivo principal é desenvolver genótipos agronomicamente superiores que proporcionem boa rentabilidade para o produtor e que atendam à demanda tanto do mercado interno quanto externo. Neste contexto, a obtenção de genótipos tolerantes a mancha fisiológica, um distúrbio abiótico que atinge maiores regiões produtoras, tem sido um dos principais objetivos do grupo de melhoramento da UENF.

Para se obter materiais genéticos superiores, em qualquer programa de melhoramento genético, faz-se necessário uma resposta favorável para diversas características simultaneamente de importância agronômica, sendo a metodologia do índice de seleção o procedimento mais adequado por permitir selecionar genótipos com base em múltiplas características. Tal procedimento foi proposto inicialmente por Smith (1936) e Hazel (1943) tem como finalidade a seleção de vários caracteres simultaneamente. Geralmente, esses índices são construídos a partir de estimativas de parâmetros genéticos e médias fenotípicas obtidas pelo método de análise de variância (Pedrozo et al., 2009). Dado que um dos objetivos primários do melhoramento é a predição do valor genético dos indivíduos avaliados (Resende, 2007a), as metodologias dos modelos lineares mistos

despontam como um procedimento ótimo para seleção, envolvendo a estimação dos componentes de variância pelo método de máxima verossimilhança restrita (*Restricted Maximum Likelihood* - REML) e a predição dos valores genotípicos pela melhor predição linear não-viciada (*Best Linear Unbiased Prediction* - BLUP), resultando em um processo de seleção mais acurado (Resende, 2002a; Alves e Resende, 2008).

As inferências sobre os genótipos em experimentos de campo, a fim de se classificar aqueles candidatos a serem lançados como cultivares, não é tarefa fácil, pois essas inferências devem ser baseadas nos verdadeiros valores genotípicos. Ou seja, inferência sobre genótipos, em qualquer fase de um programa de melhoramento, deve ser baseada em médias genéticas e não fenotípicas, pois as médias genotípicas são as médias futuras quando as cultivares forem plantadas em cultivos comerciais. Tanto no desenvolvimento como na indicação de variedades recém-liberadas, a seleção exige maior competição entre genótipos candidatos. Assim, a estimação de valor genotípico está no cerne de qualquer esforço do melhoramento (Piepho et al., 2007). As primeiras aplicações dos modelos lineares mistos datam de mais de 50 anos atrás, sendo iniciada por Henderson em 1975.

Essa metodologia proporciona uma acurada predição da performance genotípica usando estruturas de covariância que considera as correlações genéticas e informações de parentes através do coeficiente de parentesco, permitindo que este procedimento seja potencialmente usado para selecionar genótipos superiores (Crossa et al., 2006). Tal metodologia tem ganhado popularidade nos últimos tempos dado a incorporação de algoritmos eficientes em programas estatísticos amplamente disponíveis (Wolf et al., 2008).

A utilização dos modelos mistos tem ganhado ampla aplicação e já vem sendo realizada com frequência no melhoramento de espécies florestais e culturas perenes (Costa et al., 2002; Resende, 2002a; Piepho et al., 2007; Mora et al., 2007), por se tratar de um procedimento e por permitir a análise de características de baixa herdabilidade, sendo sua aplicação menos frequente em culturas anuais (Piepho et al., 2008; Chiorato et al., 2008).

O presente trabalho teve por objetivos estimar parâmetros genéticos e obter o valor genético para as características avaliadas utilizando a metodologia dos modelos mistos; selecionar as melhores progênies e, dentro destas, os

melhores genótipos, com a característica Golden, para o avanço de geração de autofecundação e retrocruzamento.

### 3.2.4. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.2.4.1. Material vegetal

Do total de 760 plantas do experimento, foram avaliadas 426 plantas hermafroditas pertencentes a 19 tratamentos. Destes 19 tratamentos, 16 são progênies segregantes pertencentes à  $RC_1S_1$  e 3 testemunhas (JS12, SS72/12 e Golden). Destas 16 progênies avaliadas, 7 possuíam a característica Golden (mesmas progênies utilizadas no item 3.1.4.1.) e 9 eram progênies normais, ou seja, não possuíam a característica em questão. O diferente número de plantas em cada progênie e o total de 426 plantas avaliadas a partir da mensuração das características morfoagronômicas se devem às perdas por fatores ambientais (não controláveis), como, por exemplo, a incidência de doenças.

As progênies segregantes de  $RC_1S_1$  avaliadas derivaram da autofecundação de plantas de um cruzamento inicial entre o genótipo JS12 (genitor recorrente) e o genótipo Golden (genitor doador). Esse cruzamento teve como finalidade transferir para o genótipo JS12 um dos parentais da cultivar 'Calimosa', a característica Golden, que parece estar associada à tolerância à mancha fisiológica do mamoeiro, além de permitir uma fácil e rápida identificação dos genótipos Golden no campo.

#### 3.2.4.2. Local de condução do experimento

O experimento foi instalado em junho de 2009 na área comercial da empresa Caliman Agrícola S/A (Fazenda Romana), localizada no município de Linhares, no Estado do Espírito Santo. Foi utilizado o delineamento em blocos ao acaso com 19 tratamentos (16 pertencentes a  $RC_1S_1$  e 3 testemunhas), quatro repetições e 10 plantas por parcela, com espaçamento de 3,50 m entre fileira e de 1,50 m entre plantas na fileira.

O manejo, as adubações, o controle de pragas e doenças e os tratos culturais utilizados seguiram os mesmos adotados nos plantios comerciais da empresa.

#### 3.2.4.3. Características morfoagronômicas avaliadas

Um total de 26 características morfoagronômicas foram mensuradas e utilizadas para a predição dos valores genéticos aos 150, 180 e 270 dias após trasnplântio. São elas: i) Altura da planta aos 150 DAT (ALTP); ii) Altura da inserção do primeiro fruto (AIPF); iii) Diâmetro do caule (DC); iv) Número de frutos totais por planta aos 150 DAT (NFT); v) Número de frutos totais por planta aos 180 DAT (NFT<sub>2</sub>); vi) Número de frutos carpeloides (NFC); vii) Número de frutos pentândricos (NFP); viii) Número de nós sem fruto (NNSF); ix) Número de frutos comerciais aos 180 DAT (NFCOM); x) Produção total de frutos aos 180 DAT (PROD<sub>1</sub>); xi) Altura da planta aos 180 DAT (ALTP<sub>2</sub>); xii) Número de frutos totais por planta aos 270 DAT (NFT<sub>3</sub>); xiii) Número de frutos carpeloides aos 270 DAT (NFC<sub>2</sub>); xiv) Número de frutos pentândricos aos 270 DAT (NFP<sub>2</sub>); xv) Número de nós sem frutos aos 270 DAT (NNSF<sub>2</sub>); xvi) Número de frutos comerciais aos 270 DAT (NFCOM<sub>2</sub>); xvii) Produção total de frutos aos 270 DAT (PROD<sub>2</sub>); xviii) Peso médio dos frutos (PF); xix) Comprimento do fruto (COMF); xx) Diâmetro do fruto (DIAMF); xxi) Firmeza externa do fruto (FE); xxii) Firmeza interna (FI); xxiii) Teor de sólidos solúveis (°BRIX); xxiv) Espessura média da polpa do fruto (ESP); xxv) Diâmetro da cavidade interna (DIAMCAV); e xxvi) Produtividade total por planta (PRODT).

#### 3.2.4.4. Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando-se a metodologia dos modelos lineares mistos, via procedimento REML/BLUP, considerando o delineamento em blocos ao acaso. Assim, a estimação dos parâmetros genéticos foi realizada via REML (máxima verossimilhança restrita) e os valores genotípicos ou médias genotípicas foram estimados pelo procedimento BLUP (melhor preditor linear não viciado), utilizando o software Selegen-REML/BLUP, apresentado por Resende

(2007b). O seguinte modelo estatístico foi utilizado para a avaliação genética dos dados:

$$y = Xr + Za + Wp + e,$$

Em que  $y$  é o vetor de dados,  $r$  é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral,  $a$  é o vetor dos efeitos genéticos aditivos individuais (assumidos como aleatórios),  $p$  é o vetor dos efeitos de parcela e  $e$  é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). As letras maiúsculas  $X$ ,  $Z$  e  $W$  representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

As análises foram realizadas utilizando o modelo estatístico 59 do programa Selegen, uma vez que os genótipos utilizados nesse estudo derivaram basicamente de autofecundação, sendo este o que mais se aproximou da real estrutura genética das progênies analisadas. Este modelo é designado para avaliação de indivíduos em progênies  $F_3$  de plantas autógamas (ou  $S_1$  de plantas alógamas), considerando várias observações por parcela.

#### 3.2.4.5. Índice de seleção

Foi realizada a seleção combinada das 26 características morfoagronômicas atribuindo-se pesos associados aos valores agronômicos, como descritos a seguir: ALTP (1), AIPF (-10), DC (5), NFT (70), NFT<sub>2</sub> (50), NFC (-20), NFP (-20), NNSF (-20), NFCOM (100), PROD<sub>1</sub> (100), ALTP<sub>2</sub> (1), NFT<sub>3</sub> (50), NFC<sub>2</sub> (-20), NFP<sub>2</sub> (-20), NNSF<sub>2</sub> (-20), NFCOM<sub>2</sub> (100), PROD<sub>2</sub> (100), PF (1), COMPF (1), DIAMF (1), FE (100), FI (100), BRIX (100), ESPP (70), DIAMCAV(-10) e PRODT (100). Esta relação de pesos foi estabelecida experimentalmente, baseada na importância das características avaliadas a nível agronômico, como sugerido por Silva et al. (2008), com algumas modificações. A seleção combinada foi realizada tanto com base na planta para identificação dos melhores genótipos, como com base na média das famílias para indicação das progênies superiores.

Para obtenção do índice de seleção, os procedimentos necessários foram realizados pelo Selegen REML/BLUP (Resende, 2002b) e pelo Microsoft office Excel 2007. Foi praticada uma intensidade de seleção de 30% para a indicação das melhores progênies e de 25% para a seleção dos genótipos superiores dentro das progênies selecionadas.

### 3.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros genéticos estimados para as características avaliadas, bem como as médias genotípicas, encontram-se na Tabela 1. De acordo com as estimativas do coeficiente de variação genotípica individual (CVgi%) que expressam em percentagem a quantidade de variação genética existente, foram observados valores variando de baixo (1,64 para BRIX) a moderadamente alto (61,28 para NNSF).

Para as características morfoagronômicas DC, AIPF, ALTP, NFT, NFC<sub>2</sub>, PROD<sub>2</sub>, PRODT e de qualidade de fruto FI, BRIX, ESPP, DIAMCAV foram apresentados valores de CVgi baixos, ou seja, valores abaixo de 10. Porém as demais características avaliadas mostraram valores variando de moderado a alto (10,96 a 61,28). Tal resultado indica que as populações a serem melhoradas geneticamente poderão obter progressos genéticos com a realização de procedimentos de seleção apropriados semelhantes aos resultados obtidos por Ramos (2010) em população de mamoeiro. A maior variação genética foi observada para número de nós sem fruto (61,28), evidenciando a possibilidade de seleção de genótipos com menor expressão dessa característica, pois ela está relacionada ao aborto de flores e frutos.

Tabela 1 – Estimativa dos parâmetros genéticos para 26 características morfoagronômicas avaliadas via procedimento REML/BLUP, utilizando dados individuais de progênes de mamoeiro

Características	Parâmetros										
	Va	Vf	h <sup>2</sup> a	h <sup>2</sup> aj	C <sup>2</sup> parc	h <sup>2</sup> mp	Acprog	CVgi%	CVe%	CVr	Média
DC	1,94	95,33	0,20	0,21	0,20	0,41	0,64	2,11	5,03	0,41	66,17
AIPF	3,12	798,18	0	0	0	0,13	0,36	3,49	17,79	0,19	51,01
ALTP	41,39	483,83	0,09	0,09	0,09	0,67	0,82	6,98	9,79	0,71	92,19
NFT	23,11	414,51	0,06	0,06	0,06	0,61	0,78	2,83	4,55	0,62	6,26
NFT <sub>2</sub>	2,08	28,59	0,07	0,08	0,07	0,65	0,80	23,88	35,21	0,67	14,82
NFC	9,20	100,90	0,09	0,10	0,09	0,68	0,82	21,38	29,44	0,72	0,88
NFP	0,08	1,82	0,05	0,05	0,05	0,58	0,76	33,91	57,27	0,59	0,33
NNSF	0,41	1,80	0,23	0,02	0,23	0,44	0,66	61,28	139,25	0,44	8,59
NFCOM	1,75	29,89	0,06	0,06	0,06	0,61	0,78	15,29	24,20	0,63	13,66
PROD <sub>1</sub>	14433,32	657719,21	0,02	0,02	0,02	0,43	0,65	39,49	91,40	0,43	6,02
ALTP <sub>2</sub>	68034431,78	0	0	0	0	0,16	0,40	28,54	132,04	0,21	232,11
NFT <sub>3</sub>	9922898,91	0	0,01	0,01	0,01	0,27	0,52	12,98	42,32	0,30	24,51
NFC <sub>2</sub>	149,32	10068,28	0,01	0,02	0,01	0,35	0,59	7,39	20,31	0,36	1,52
NFP <sub>2</sub>	0,03	1,71	0,02	0,02	0,02	0,40	0,63	34,38	84,55	0,40	0,51
NNSF <sub>2</sub>	138,21	73791,23	0	0	0	0,07	0,26	47,07	346,53	0,13	13,30
NFCOM <sub>2</sub>	197670,47	9976971,58	0,02	0,02	0,02	0,41	0,64	29,89	72,27	0,41	22,46
PROD <sub>2</sub>	10173298,50	0	0	0	0	0,05	0,22	8,59	77,20	0,11	19,72
PF	5505590,55	0	0,01	0,01	0,01	0,28	0,53	21,77	69,61	0,31	514,00
COMPF	2124,89	77166,61	0,03	0,03	0,03	0,47	0,69	21,98	46,26	0,47	179,90
DIAMF	229,42	9222,52	0,02	0,03	0,02	0,45	0,67	13,45	29,52	0,45	75,10
FE	126,06	5021,09	0,03	0,03	0,03	0,46	0,67	10,96	23,98	0,45	103,99
FI	5,49	715,73	0,01	0,01	0,01	0,22	0,47	3,58	13,30	0,26	80,84
BRIX	0,91	751,28	0	0	0	0,05	0,21	1,64	14,86	0,11	10,52
ESPP	19,13	1506,66	0,01	0,01	0,01	0,32	0,56	5,32	15,65	0,33	20,70
DIAMCAV	25,18	1387,20	0,02	0,02	0,02	0,39	0,62	6,84	17,17	0,39	34,9
PRODT	15,21	813,91	0,02	0,02	0,02	0,39	0,63	5,77	14,30	0,40	25,75

Va: variância genética entre famílias, equivalendo a variância genética aditiva mais (¼) da variância genética de dominância; Vf: variância fenotípica individual; h<sup>2</sup>a=h<sub>2</sub>: herdabilidade individual no sentido amplo entre famílias; h<sup>2</sup>aj: herdabilidade no sentido amplo entre famílias, ajustada para os efeitos de parcela; c<sup>2</sup>parc=c<sub>2</sub>: coeficiente de determinação dos efeitos de parcela; h<sup>2</sup>mp: herdabilidade média de progênes; Acprog: acurácia da seleção de progênes; CVgi%: coeficiente de variação genética aditiva individual; CVe%: coeficiente de variação residual; CVr: coeficiente de variação relativa (CVgi/CVe).

Por outro lado, um pequeno e discreto progresso genético é esperado para teor de sólidos solúveis (BRIX), tendo em vista a baixa variação observada entre as famílias avaliadas (1,96).

De maneira geral, os valores obtidos de  $CVe\%$  foram baixos, variando de 4,55 a 139,25, mantendo-se em níveis aceitáveis para a experimentação de campo, exceto para as características NNSF (139,25),  $PROD_1$  (91,40),  $ALT_2$  (132,04),  $NFP_2$  (84,55),  $NNSF_2$  (346,53). Os altos valores encontrados indicam uma baixa acurácia e menor precisão experimental, além de poder estar associado ao grande tamanho dos experimentos, resposta diferenciada dos genótipos aos estresses de altas temperaturas e seca, incidência de pragas e doenças, além do estresse causado por ventos e podas.

O coeficiente de variação relativa (CVr), equivalente ao índice de variação, refere-se à magnitude da relação entre o CVg e CVe e ainda permite inferir sobre a acurácia e a avaliação genotípica. Segundo Resende e Duarte (2007), valores de CVr iguais a 1,0 são adequados por propiciar inferências com acurácias e precisões altas e muito altas. Porém, neste trabalho, os valores para o coeficiente de variação relativa variaram de 0,11 para  $PROD_2$  a 0,72 para NFC. Para a maioria das características, os valores encontrados para CVr foram superiores a 0,30, sendo considerados moderados, e para as características ALTP, NFT,  $NFT_2$ , NFC, NFP e NFCOM, os valores encontram-se bem próximos da unidade, indicando uma situação favorável à obtenção de sucesso com a seleção.

O parâmetro conhecido como acurácia, de acordo com Resende (2007a), refere-se à correlação entre o valor genotípico verdadeiro do genótipo e aquele estimado a partir das informações dos experimentos de campo, sendo tanto mais alto quanto menores forem os desvios absolutos entre esses valores, indicando assim a qualidade da avaliação genotípica.

Os valores encontrados para acurácia variaram de 0,21 a 0,82, sendo a maioria das características consideradas de média a altas, exceto para número de nós sem fruto aos 270 DAT (0,26), produção aos 270 DAT (0,22) e teor de sólidos solúveis (0,21). Resende (2001), trabalhando com populações de cafeeiro, declarou que a acurácia ou correlação entre os valores genotípicos preditos e os verdadeiros pode ser aumentada por meio de uma experimentação mais adequada, mantendo-se o mesmo tamanho do experimento.

Com relação às estimativas da herdabilidade individual no sentido amplo ( $h^2_a$ ), elas foram consideradas baixas para todas as variáveis avaliadas, apresentando-se nula para as características altura da inserção do primeiro fruto, altura da planta aos 180 DAT, número de nós sem frutos aos 270 DAT, produção de frutos aos 270 DAT e teor de sólidos solúveis. Já os maiores valores observados para  $h^2_a$  foram para diâmetro do caule e número de nós sem fruto aos 180 DAT. Tal índice se mostrou de pouco sucesso quando se considera seleção de plantas individuais. Baixas estimativas de herdabilidade individual no sentido amplo foram observadas para produção, firmeza do fruto e da polpa e diâmetro do fruto em estudo desenvolvido por Ramos (2010) em mamoeiro. Resultados semelhantes também foram encontrados por Pedrozo (2006) e Pedrozo et al. (2009) trabalhando com melhoramento de cana-de-açúcar.

Já quando se considerou a herdabilidade em nível de média das progênes ( $h^2_{mp}$ ), foram observadas magnitudes significativamente superiores, variando de 0,05 a 0,67. Os menores valores foram observados para altura da inserção do primeiro fruto (0,13), altura da planta aos 180 DAT (0,16), número de nós sem fruto aos 270 DAT (0,07), produção aos 270 DAT (0,05) e teor de sólidos solúveis (0,05). Para as demais características, as estimativas obtidas para  $h^2_{mp}$  foram até sete vezes superiores àquelas obtidas pela herdabilidade individual, sendo que a seleção neste caso pode ser mais efetiva quando se utilizam as informações das progênes. Este resultado indica uma maior viabilidade em termos de ganho genético para seleção com base na média das progênes em relação àqueles obtidos por indivíduo. Segundo Falconer (1987), a herdabilidade é uma propriedade não somente de um caráter, mas também da população e das circunstâncias de ambientes às quais os indivíduos estão sujeitos, podendo o seu valor ser afetado se houver alteração em qualquer um dos componentes das variâncias genéticas e fenotípicas.

Ao analisar o ranqueamento das progênes através do índice de seleção, ele se mostrou coerente ao ranquear as progênes com base em todas as características avaliadas, o que qualifica como uma estratégia adequada a ser empregada na seleção de genótipos superiores e indicação de progênes que, além de produtivas, obtiveram valores satisfatórios para outros atributos como firmeza externa e interna de frutos (Tabela 2).

Tabela 2- Ranqueamento através do índice de seleção com ganhos genéticos (Gs) e novas médias preditas (Xs) para 4 características de importância no melhoramento do mamoeiro, para as 16 progênie segregantes para a característica Golden avaliadas e três testemunhas

Progênie	Tratamento	AIPF		FE		FI		PRODT		Índice de Seleção
		Gs	Xs	Gs	Xs	Gs	Xs	Gs	Xs	
10	29RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,56	51,57	5,72	108,12	2,49	70,12	2,49	70,12	<b>513,28</b>
11	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> I	0,43	51,44	1,63	104,03	2,68	70,32	2,68	70,32	<b>393,68</b>
13	32RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> I	0,19	51,20	3,67	106,07	2,65	70,28	2,65	70,28	<b>341,22</b>
14	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> I	0,24	51,25	6,24	108,64	1,85	69,49	1,85	69,49	<b>295,07</b>
15	34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> I	0,81	51,82	3,29	105,69	2,02	69,65	2,02	69,65	<b>160,28</b>
5	24RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	31,0	51,32	2,06	104,46	1,62	69,25	1,62	69,25	<b>120,83</b>
16	35RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,34	51,36	4,47	106,88	1,73	69,36	1,85	69,49	<b>120,72</b>
19	38RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> I	0,16	51,17	4,84	107,24	0,41	68,04	0,23	67,87	<b>106,31</b>
18	37RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> I	0,13	51,14	7,70	110,10	2,24	69,88	0,41	68,04	<b>102,23</b>
12	31RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> I	0,85	51,86	7,16	109,56	1,53	69,16	1,14	68,77	<b>83,25</b>
1	JS12	0,64	51,65	7,34	109,74	1,28	68,91	1,28	68,91	<b>68,53</b>
6	25RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,49	51,50	6,96	109,36	1,45	69,08	1,85	69,49	<b>67,07</b>
17	36RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,28	51,29	2,47	104,87	0,52	68,15	0,52	68,15	<b>-83,72</b>
8	27RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,74	51,75	4,05	106,45	0,23	67,87	0,23	67,87	<b>-87,11</b>
9	28RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,38	51,40	8,62	111,02	0,87	68,50	0,87	68,50	<b>-146,92</b>
3	Golden	5,8	51,07	1,14	103,54	1,00	68,64	1,00	68,642	<b>-389,70</b>
2	SS72/12	0	51,01	0,68	103,08	0,63	68,27	0,63	68,27	<b>-406,12</b>
20	39RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,22	51,23	2,86	105,26	1,14	68,77	1,14	68,77	<b>-415,87</b>
7	26RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,26	51,27	5,29	107,69	0,00	67,63	0,00	67,63	<b>-740,37</b>

I: progênie selecionada a partir do índice de seleção, segregantes para característica Golden; AIPF: altura da inserção do primeiro fruto; FE: firmeza externa do fruto; FI: firmeza interna da polpa; PRODT: produtividade total; Gs: ganho se seleção; Xs: nova média predita

Deve-se considerar sempre a busca da seleção de genótipos com superioridade satisfatória para várias características, não apenas para uma característica principal. Assim, é importante e deve ser considerada não só apenas a estrutura genética dos genótipos a serem avaliados, mas ainda a eficiência dos métodos de seleção que dependerão do objetivo do programa de melhoramento. Nesse estudo, como se objetivou a seleção de genótipos Golden superiores, o índice de seleção foi utilizado para ajudar a selecionar tais materiais.

De acordo com o índice de seleção utilizado considerando as melhores progênes e a seleção direta considerando as quatro características de maior interesse no melhoramento do mamoeiro (AIPF, FE, FI e PRODT), foi possível a indicação e seleção de onze progênes superiores (Tabela 2). Destas onze, a maioria foi progênes que segregaram para a característica Golden, ou seja, portadores do gene responsável pela característica Golden, objetivo deste trabalho. Assim, sete progênes pertencentes à geração ( $RC_1S_1$ ) do cruzamento inicial entre JS12 (genitor recorrente) e Golden (genitor doador da característica) foram indicadas como melhores progênes pelo índice de seleção. As progênes segregantes para a característica Golden selecionadas foram as seguintes: 11 ( $30RC_1S_1$ ), 13 ( $32RC_1S_1$ ), 14 ( $33RC_1S_1$ ), 15 ( $34RC_1S_1$ ), 19 ( $38RC_1S_1$ ), 18 ( $37RC_1S_1$ ) e 12 ( $31RC_1S_1$ ).

Ao considerar a seleção dos genótipos superiores dentro das melhores progênes (Tabela 3), foram indicados vinte genótipos superiores, todos eles portadores da característica Golden. Foram selecionados genótipos das seguintes progênes: 11 ( $30RC_1S_1$ ), 12 ( $31RC_1S_1$ ), 14 ( $33RC_1S_1$ ), 15 ( $34RC_1S_1$ ), 18 ( $37RC_1S_1$ ) e 19 ( $38RC_1S_1$ ). Segundo Resende (2007), a metodologia do REML/BLUP proporciona o ordenamento dos genótipos potenciais para seleção, explorando toda a variação genotípica entre e dentro de progênes, porém considerando cada variável analisada separadamente. Esse procedimento tem se mostrado eficiente em estudos com cana-de-açúcar (Pedrozo et al., 2009), feijão (Chiorato et al., 2008) e seringueira (Costa et al., 2008a, 2008b).

Tabela 3 - Seleção dos melhores genótipos Golden dentro das progênes com base no índice genético padronizado (IG2) e seleção direta para quatro características de importância para melhoramento do mamoeiro

Progênie(Plt)	Identificação	AIPF				FE			
		a	VG	Gs	Xs	a	VG	Gs	Xs
11(2)	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -1	0,67	51,68	0,81	51,81	7,27	109,67	8,31	110,72
11(7)	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -5	0,65	51,66	0,80	51,81	6,92	109,32	8,23	110,63
11(8)	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -6	0,64	51,65	0,80	51,81	6,82	109,22	8,21	110,61
11(4)	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -10	0,06	51,07	0,41	51,43	1,05	103,45	4,99	107,39
11(2)	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -16	-0,08	50,92	0,25	51,27	-3,10	99,29	2,80	105,21
12(7)	31RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -18	-0,23	50,77	0,24	51,25	-3,78	98,61	2,55	104,95
14(1)	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -1	0,49	51,50	0,75	51,76	5,76	108,16	7,78	110,18
14(1)	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -8	0,04	51,05	0,38	51,40	0,58	102,98	4,66	107,06
14(2)	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -14	-1,07	49,93	0,04	51,05	-12,39	90,00	0,08	102,48
14(9)	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -18	-1,11	49,89	0,02	51,04	-12,61	89,78	-0,04	102,36
14(10)	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -19	-1,11	49,89	0,02	51,03	-12,74	89,65	-0,07	102,32
15(3)	34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -3	0,33	51,34	0,71	51,72	5,46	107,87	7,54	109,94
15(4)	34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -4	0,33	51,34	0,71	51,72	5,45	107,85	7,51	109,91
15(1)	34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -16	-0,26	50,75	0,23	51,24	-4,11	98,28	2,39	104,79
15(9)	34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -21	-1,12	49,88	0,01	51,03	-12,98	89,41	-0,16	102,23
18(3)	37RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -10	-0,33	50,68	0,20	51,21	-4,87	97,52	2,04	104,44
18(8)	37RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -14	-0,33	50,67	0,19	51,20	-5,08	97,31	1,95	104,35
19(7)	38RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -7	0,00	51,01	0,33	51,34	-0,65	101,75	3,98	106,38
19(10)	38RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -9	0,00	51,01	0,33	51,34	-0,68	101,71	3,94	106,34
19(6)	38RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -12	-0,34	50,66	0,19	51,20	-5,20	97,19	1,88	104,28

Tabela 3- Cont.

Progênie(Plt)	Identificação	FI				PRODT				Índice
		a	VG	Gs	Xs	a	VG	Gs	Xs	
11(2)	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -1	1,16	66,68	1,62	67,14	2,23	69,86	2,66	70,29	236,00
11(7)	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -5	1,14	66,66	1,58	67,10	2,23	69,86	2,66	70,29	264,44
11(8)	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -6	1,13	66,65	1,58	67,10	2,22	69,86	2,65	70,28	418,41
11(4)	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -10	0,04	65,56	0,77	66,29	2,21	69,85	2,64	70,28	527,25
11(2)	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -16	-0,53	64,98	0,39	65,91	-0,79	66,83	1,07	68,71	11,69
12(7)	31RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -18	-0,53	64,98	0,39	65,91	-0,80	66,82	1,07	68,70	562,40
14(1)	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -1	0,65	66,17	1,46	66,98	1,70	69,33	2,48	70,11	349,55
14(1)	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -8	-0,04	65,47	0,71	66,23	0,80	68,44	1,66	69,29	300,72
14(2)	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -14	-1,31	64,20	0,04	65,56	-2,85	64,77	0,35	67,98	323,28
14(9)	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -18	-1,31	64,20	0,03	65,55	-2,86	64,77	0,34	67,97	284,03
14(10)	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -19	-1,31	64,20	0,03	65,55	-2,88	64,75	0,33	67,96	304,20
15(3)	34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -3	0,59	66,11	1,37	66,89	1,56	69,20	2,38	70,02	97,43
15(4)	34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -4	0,58	66,10	1,36	66,88	1,56	69,20	2,37	70,01	115,31
15(1)	34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -16	-0,59	64,92	0,33	65,85	-0,91	66,72	0,96	68,59	171,65
15(9)	34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -21	-0,67	64,84	0,28	65,80	-3,29	64,33	0,28	67,91	326,96
18(3)	37RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -10	-0,67	64,84	0,28	65,80	-1,00	66,63	0,86	68,49	49,20
18(8)	37RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -14	-1,33	64,18	0,01	65,53	-1,00	66,62	0,85	68,49	87,58
19(7)	38RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -7	-0,16	65,35	0,58	66,10	0,23	67,86	1,50	69,13	246,61
19(10)	38RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -9	-0,16	65,35	0,58	66,10	-0,10	67,52	1,49	69,12	235,23
19(6)	38RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -12	-0,68	64,83	0,26	65,78	-1,04	66,58	0,82	68,45	68,67

a: valor aditivo; VG: valor genético; Gs: ganho com a seleção; Xs: nova média dos indivíduos selecionados

Com base no índice genético padronizado (IG2), foram selecionadas 20 plantas possuidoras da característica Golden, para o avanço de geração, tanto de autofecundações como de retrocruzamentos. Estes genótipos foram selecionados dentro das progênes superiores com base na seleção combinada, utilizando a seleção direta para as características AIPF, FE, FI e PRODT, importantes no melhoramento do mamoeiro. No entanto, é importante lembrar que os parâmetros genéticos estimados bem como a eficiência do índice utilizado na seleção são caracteres inerentes à população trabalhada e às condições experimentais estabelecidas neste estudo.

### 3.2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, F. M.; Resende, M. D. V. (2008) Avaliação genética de indivíduos e progênes de cupuaçuzeiro no estado do Pará e estimativas de parâmetros genéticos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30: 696-701.
- Chiorato, A. F.; Carbonell, S. A. M.; Dias, L. A. S.; Resende, M. D. V. (2008) Prediction of genotypic values and estimation of genetic parameters in common bean. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51: 465-472.
- Costa, R. B., Resende, M. D. V.; Gonçalves, P. S.; Arruda, E. J.; Oliveira, L. C. S.; Bortoletto, N. (2002) Prediction of genotypic values for yield in rubber tree-clone test trials using REML/BLUP procedure. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 2: 575-582.
- Costa, R. B.; Resende, M. D. V.; Gonçalves, O. S.; Chichorro, J. F.; Roa, R. A. R. (2008a) Variabilidade genética e seleção para caracteres de crescimento da seringueira. *Bragantia*, 67: 299-305.
- Costa, R. B.; Resende, M. D. V.; Gonçalves, O. S.; Oliveira, L. C. S.; Ítavo, L. C. V.; Roa, R. A. R. (2008b) Seleção simultânea para porte reduzido e alta produção de látex em seringueira. *Bragantia*, 67: 649-654.

- Crossa, J.; Burgueño, J.; Comelius, P. L.; McLaren, G., Trethowan, R.; Krishnamachari, A. (2006) Modeling genotype x environment interaction using additive genetic covariances of relatives for predicting breeding values of wheat genotypes. *Crop Science*, 46: 1722-1733.
- Damasceno Junior, P. C.; Costa, F. R.; Pereira, T. N. S.; Freitas Neto, M.; Pereira, M. G. (2009) Karyotype determination in three Caricaceae species emphasizing the cultivated form (*C. papaya* L.). *Caryologia*, 62: 10-15.
- Falconer, D. S. (1987) *Introdução à genética quantitativa*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.
- Hazel, L. N. (1943) The genetic basis for constructing selection indexes. *Genetic*, 28: 476-490.
- Henderson, C. R. (1975) Best linear unbiased estimation and prediction under a selection model. *Biometrics*, 31:432-449.
- Marin, S. L. M.; Pereira, M. G.; Amaral Júnior, A. T.; Martelleto, L. A. P.; Ide, C. D. (2006) Heterosis in papaya hybrids from partial diallel of 'Solo' and 'Formosa' parents. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 6:24-29.
- Mora, F.; Pupin-Junior, F.; Scapim, C. A. (2007) Predicción del efecto de cultivares de algodón en la presencia de interacción genotipo-ambiente. *Ciencia e Investigación Agraria*, 34: 13-21.
- Nehmi, I. M. D; Ferraz, J. V.; Nehmi Filho, V. A.; Silva, M. L. M. (2002) da. (Coord.) *AGRIANUAL 2003: anuário da agricultura brasileira*. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, p. 378-386.
- Pedrozo, C. A. (2006) Eficiência da seleção em fases iniciais no melhoramento da cana-de-açúcar. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa. 120p.

- Pedrozo, C. A.; Benites, F. R. G.; Barbosa, M. H. P.; Resende, M. D. V.; Silva, F. L. (2009) Efficiency of selection indexes using the REML/BLUP procedure in sugarcane breeding. *Scientia Agraria*, 10:31-36.
- Piepho, H. P.; Mohring, J.; Melchinger, A. E.; Buschse, A. (2007) BLUP for phenotypic selection in plant breeding and variety test. *Euphytica*, v. 161, n. 1-2, p. 209-228,
- Piepho, H. P.; Mohring, J.; Melchinger, A. E.; Buchse, A. (2008) BLUP for phenotypic selection in plant breeding and variety testing. *Euphytica*, 161: 209-228.
- Ramos, H. C. C. (2010) Retrocruzamento em mamoeiro: avanço de gerações e seleção de linhagens via procedimentos clássicos e moleculares. Tese apresentada à Universidade Estadual do Norte Fluminense. Campos dos Goytacazes/RJ. 134 p.
- Ramos, H. C. C.; Pereira, M. G.; Silva, F. F.; Viana, A. P. (2011a) Seasonal and genetic influences on sexual expression in segregating papaya population derived from backcross. *Crop Breeding and Applied Biotechnology (no prelo)*.
- Resende, M. D. V. (2001) Melhoramento do cafeeiro pelo procedimento REML/BLUP. *Bragantia*, Campinas. 60:3, 185-193.
- Resende, M. D. V. (2002a) Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 975 p.
- Resende, M. D. V. (2002b) *Software SELEGEN – REML/BLUP*. Colombo: Embrapa Florestas, 67p. (Embrapa Florestas - Documentos, 77).
- Resende, M. D. V. (2007a) Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético. Colombo: Embrapa Florestas, 362p.

- Resende, M. D. V. (2007b) SELEGEN-REML/BLUP: sistema estatístico e seleção genética computadorizada via modelos lineares mistos. Embrapa Florestas, 360p.
- Resende, M. D. V.; Duarte, J. B. (2007) Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 37: 182- 194.
- Silva, F.F.; Pereira, M.G.; Ramos, H.C.C.; Damasceno Júnior, P.C.; Pereira, T.N.S.; Gabriel, A.P.C.; Viana, A.P.; Ferregueti, G.A. (2008) Selection and estimation of the genetic gain in segregating generations of papaya (*Carica papaya* L.). *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 8: 1-8.
- Smith, H. F. (1936) A discriminant function for plant selection. *Annals of Eugenics*. 7: 240-250.
- Wolf, J.; Duchateau, L.; Schrevens, E. (2008) Dealing with source of variability in the data-analysis of phenotyping experiments with transgenic Rice. *Euphytica*, 160: 325-337.

### 3.3. ANÁLISE MOLECULAR DE PROGÊNIES SEGREGANTES DE MAMOEIRO ORIUNDAS DE RETROCRUZAMENTO VIA MARCADORES MICROSSATÉLITES

#### 3.3.1. RESUMO

Apesar da crescente importância da cultura do mamão no Brasil, existem poucas cultivares disponíveis para plantio comercial. Neste contexto, o melhoramento genético convencional associado às técnicas moleculares permite acelerar o processo de obtenção de novas cultivares. Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi fazer a caracterização molecular de genótipos de mamoeiro derivados da autofecundação da primeira geração de retrocruzamento, via marcadores microssatélites, buscando o monitoramento do nível de homozigose e transferência do gene/alelo que confere a característica Golden, bem como o monitoramento da proporção genômica parental nos genótipos avaliados. A distância genética foi calculada pelo índice ponderado e representada por dendrograma baseado no método hierárquico vizinho mais próximo e pela análise das coordenadas principais. A partir da análise de 20 *locos* microssatélites, 19 genótipos com a característica Golden pertencentes à RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, além dos genótipos parentais, foram avaliados. Os valores médios encontrados para o coeficiente de endogamia foram de 0,36, e a análise genômica revelou valores médios do genoma parental recorrente de 64%. Tanto o nível de endogamia quanto as

proporções genômicas, apesar de apresentarem valores médios abaixo do esperado, mostraram-se eficientes em indicar indivíduos mais próximos ou que apresentaram proporções do parental recorrente satisfatórios. Estes indivíduos poderão ser selecionados e deverão ser candidatos ao avanço de gerações tanto de autofecundação como também de retrocruzamento.

### 3.3.2. ABSTRACT

Despite the increasing importance of the papaya crop in Brazil, there are few available cultivars for commercial crop. In this context, the conventional breeding associated with molecular techniques allow to speed the process of obtaining new cultivars. Thus, the objective of the present work was the molecular characterization of papaya genotypes derived from selfing of the first backcross generation via microsatellite markers, seeking to monitor the level of homozygosity and the transferring of the gene/allele that provides Golden characteristic as well as monitoring the parental genomic proportion in the evaluated genotypes. The genetic distance was calculated by the weighted index and represented by a dendrogram based on Neighbor Joining hierarchical method and the Principal Coordinates Analysis. From the analysis of 20 microsatellite loci, 19 Golden genotypes belonging to  $RC_1S_1$  and the parental genotypes were evaluated. The average value for the inbreeding coefficient was 0.36 and the genomic analysis revealed average values of the parental recurrent genome of 64%. Both the level of inbreeding and the genomic proportions were effective in pointing closer individuals or those who presented satisfactory parental recurrent proportions, despite showing up average values lower than expected. Such individuals should be selected and become candidates for generation advancement of both selfing and backcross.

### 3.3.3. INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.), uma cultura tipicamente tropical, tem sido cultivado em mais de ao redor do mundo, para o consumo de frutas frescas e também para explorar seu , cujo objetivo é a extração da enzima proteolítica papaína, que é amplamente utilizada na indústria farmacêutica e indústrias de alimentos. Esta espécie é diplóide com 9 pares de cromossomos (Damasceno possui um genoma relativamente pequeno de 372 Mb, formada por um par de cromossomos sexuais homomórficos, com diferenças apenas à nível molecular (Liu et al, 2004; Yu et al, 2008). As plantas possuem três formas básicas sexuais (femininas, masculinas e hermafroditas) (Storey, 1953).

Apesar da crescente importância da cultura do mamão no Brasil, existem poucas cultivares disponíveis para plantio comercial. É evidente que há uma necessidade de direcionar esforços para programas de melhoramento que promovam a ampliação da base genética através do desenvolvimento de cultivares que têm características agronômicas desejáveis e, principalmente, para atender à demanda de mercado (Silva et al., 2007).

Neste contexto, o melhoramento genético mediado por programas de retrocruzamentos permite a hibridação de genótipos distintos, estabelecendo uma importante estratégia de seleção para a introgressão de interesse em variedades de culturas.

Apesar da expressiva produção desta fruteira, a base genética estreita de tipos comerciais de mamão tem sido bem documentada (Stiles et al., 1993; Sondur et al., 1996; Kim et al., 2002; Ma et al., 2003; Silva et al., 2008). Ming et al. (2008) ressaltam que uma plausível justificativa para a consolidação desse cenário está na preferência cultural e no isolamento geográfico, forçando a seleção de cultivares com base genética relativamente estreita, resultando em uma baixa diversidade. A ampliação dessa base genética implica a introgressão de germoplasma exótico em programas de melhoramento como fonte de novos genes, além da implementação de programas de melhoramento que promovam a hibridação de genótipos divergentes, proporcionando o estabelecimento de novas combinações gênicas.

Além da falta quanto à escolha de materiais superiores, a qualidade do mamão em certas regiões do País, como sudeste da Bahia, norte do Espírito

Santo e, inclusive, nas regiões norte e noroeste do Estado do Rio de Janeiro, tem sido comprometida pela ocorrência da “Mancha Fisiológica do Mamoeiro”. A variedade ‘Golden’ foi selecionada a partir da variedade ‘Sunrise Solo’, em áreas comerciais da região norte do Estado do Espírito Santo (Costa e Pacova, 2003), sendo vista como uma esperança na solução do problema da mancha fisiológica, por apresentar tolerância a este distúrbio. O genótipo ‘Golden’ possui características como coloração verde-clara tanto das folhas como do fruto, polpa vermelha, boa qualidade de fruto. A característica Golden parece estar associada à tolerância ao distúrbio abiótico conhecido como Mancha Fisiológica do Mamoeiro. A solução para um problema como este poderá ser alcançada pelo melhoramento genético.

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, em parceria com a Empresa Caliman Agrícola S.A., conduz um Programa de Melhoramento do Mamoeiro, já tendo registrado junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento nove híbridos de mamoeiro oriundos de cruzamentos entre genótipos do grupo Solo *versus* Formosa, com qualidade e produtividade superiores às variedades Formosa em cultivo no País.

A transferência do gene Golden que confere tolerância à mancha fisiológica para genótipos superiores, de grande potencial genético e agrônômico para o melhoramento, foi conduzida via retrocruzamento pelo grupo de melhoramento do mamoeiro da UENF. Embora seja considerado um método bem conhecido de introgressão ou substituição de um alelo alvo, o grande número de gerações necessárias para recuperar o genoma do parental recorrente torna este método de melhoramento um processo demorado e assim se faz necessário lançar mão da seleção assistida por marcadores (SAM), a qual ajuda os procedimentos clássicos, permitindo acelerar a recuperação do genoma do parental recorrente, reduzindo o número de gerações necessárias para introgressão do gene de interesse (Hospital e Charcosset, 1997). Essa estratégia também pode aumentar o ganho genético e a eficiência econômica em relação aos procedimentos clássicos (Oliveira et al., 2010).

Os objetivos deste trabalho foram monitorar a transferência da característica Golden em genótipos de progênies segregantes de mamoeiro; caracterizar em nível molecular tal população via marcadores microssatélites;

quantificar a proporção do genitor recorrente nas progênes avaliadas e com isso, auxiliar a seleção de genótipos com a característica Golden.

### 3.3.4. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.3.4.1. Material Vegetal

Foram avaliados 19 genótipos que apresentaram a característica Golden, derivados do programa de melhoramento genético do mamoeiro conduzido pela UENF, além dos genótipos parentais (JS12 e Golden).

As plantas Golden pertencentes à geração  $RC_1S_1$  avaliadas foram obtidas pelo cruzamento inicial entre o genótipo JS12 (grupo Formosa) e o genótipo Golden (grupo Solo). Esse cruzamento teve como finalidade transferir para o genótipo JS12 (um dos genitores da cultivar 'Calimosa') a característica Golden, que está associada à tolerância à Mancha Fisiológica do Mamoeiro.

Deste cruzamento, foi obtida a  $F_1$ , que foi retrocruzada com o genitor recorrente (JS12) e se obteve então um conjunto de plantas  $RC_1$  e, destas, apenas uma proporção manifestou o caráter Golden quando autofecundado ( $RC_1S_1$ ), conforme o esperado. Os genótipos que manifestaram o caráter de interesse foram avaliados no presente trabalho, uma vez que possuíam o caráter de interesse cujo objetivo principal é a transferência do caráter Golden ao genitor recorrente (JS12).

#### 3.3.4.2. Extração de DNA genômico

A extração do DNA genômico total foi feita usando folhas jovens segundo a metodologia do Plant Genomics DNA Extraction Kit YGP 100 – RBC (BioAmérica). As amostras foliares foram coletadas individualmente para cada genótipo avaliado e, posteriormente, maceradas em nitrogênio líquido a  $-196^\circ C$ .

Após a extração, foi realizada a quantificação do DNA via análise em gel de agarose a 0,8%, utilizando o marcador High DNA Mass Ladder (Invitrogen, USA). As amostras de DNA foram coradas, utilizando a mistura de Blue Juice e

GelRed™ na proporção de 1:1 e logo após, foi realizada a captura da imagem pelo sistema de fotodocumentação MiniBis Pro (Bio-Imaging Systems). As imagens foram submetidas à análise da quantificação pelo programa Image J e diluídas para a concentração final de trabalho de 10ng/μL.

#### 3.3.4.3. Análise dos Marcadores SSR

O DNA dos genótipos parentais (JS12 e Golden) foi utilizado primeiramente para uma triagem de iniciadores microssatélites, com a finalidade de identificar locos SSR polimórficos, capazes de diferenciar os dois genótipos antes de serem utilizados na população segregante. No total, foram analisados 114 iniciadores, dos quais apenas 20 possibilitaram uma diferenciação bem definida entre os parentais. Tais marcadores SSR foram desenvolvidos por Eustice et al. (2008) a partir do mapeamento genético realizado por Chen et al. (2007).

As reações de amplificação dos genótipos Golden e ainda dos genótipos parentais foram realizadas utilizando-se 20 iniciadores SSR para um volume final de reação de 13 μL, conforme descrito por Ramos et al. (2011b), com algumas modificações. As temperaturas de anelamento dos iniciadores variaram entre 60°C a 63 °C de acordo com cada iniciador. Os produtos da amplificação foram separados por meio de eletroforese horizontal, em gel de agarose Metaphor 4 %, corado com GelRed™ e visualizado pelo sistema de fotodocumentação MiniBis Pro (Bio-Imaging Systems).

#### 3.3.4.4. Análise dos dados

Os dados obtidos a partir da amplificação dos 20 iniciadores SSR foram primeiramente convertidos em um código numérico para cada alelo por loco e a matriz numérica foi desenvolvida atribuindo-se valores de um até o número máximo de alelos no loco, que neste caso, apresentou até dois alelos por loco. Para um loco que apresenta dois alelos, tem-se a representação 11 e 22 para formas homozigotas ( $A_1A_1$  e  $A_2A_2$ ) e 12 para as formas heterozigotas ( $A_1A_2$ ). A partir da obtenção desta matriz numérica foi calculada a distância genética entre os materiais estudados, com auxílio do Programa GENES (Cruz, 2008). A análise de agrupamento dos genótipos através do dendrograma foi realizada por meio do

método hierárquico Vizinheiro Mais Próximo com auxílio do programa Mega versão 5 (Kumar et al., 2009), e a dispersão gráfica dos genótipos, realizada com base no método da Análise das Coordenadas Principais (PCA), utilizando-se o programa Genalex versão 6.3 (Peakall e Smouse, 2009).

Os valores do conteúdo de polimorfismo (PIC), índice de Shannon, heterozigose esperada ( $H_E$ ) e heterozigose observada ( $H_O$ ) foram estimados através dos programas PowerMarker, versão 3.25 (Liu e Muse, 2005), e PopGene, versão 1.31 (Yeh et al., 1999). E os genótipos foram avaliados ainda quanto à sua estruturação genética utilizando-se o método bayesiano através do programa Structure 2.3.1 (Pritchard et al., 2000). Foi utilizado o modelo de presença de mistura (“admixture model”) e as frequências alélicas correlacionadas, usando Burnin Period = 5000, seguido de extensão de 50000 repetições durante a análise e o k ótimo utilizado foi igual a 2. A estrutura genética das populações também foi avaliada com uma abordagem baseyana analisando os genótipos SSR com o programa Structure (Pritchard e Stepheens, 2007).

A análise de proporção do genoma do genitor recorrente passado para os indivíduos autofecundados da primeira geração de retrocruzamento ( $RC_1S_1$ ) foi realizada por meio da anotação dos alelos do genitor recorrente presentes em cada indivíduo das gerações segregantes para os 20 locos SSR avaliados. As informações de alelos compartilhados foram reunidas em uma tabela no Microsoft Excel, na qual puderam ser calculadas as porcentagens do genoma do genitor recorrente nos indivíduos com a característica Golden. Foram gerados gráficos a partir dos dados obtidos, indicando a proporção do genoma do genitor recorrente em cada indivíduo das progêneses segregantes.

### 3.3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisados inicialmente um total de 114 marcadores microssatélites nos parentais recorrente (JS12) e doador (Golden) com a finalidade de distinguir a nível molecular tais genótipos. Desse total, vinte (17,5 %) revelaram diferença entre os genótipos parentais e foram utilizados na análise dos genótipos

possuidores da característica Golden da população ( $RC_1S_1$ ) avaliada neste trabalho. Os locos SSR geraram um total de 40 alelos, variando de um a dois alelos por loco, gerando uma média de dois alelos/loco (Tabela 1).

A análise dos locos SSR permitiu a estimativa da heterozigose esperada ( $H_E$ ), que na população avaliada, variou de 0,17 a 0,51, com média de 0,42, enquanto a heterozigose observada ( $H_O$ ) variou de 0,09 a 0,71, com média de 0,31. Os valores baixos encontrados para a heterozigosidade observada na população são esperados indicando um excesso de homozigotos e está relacionada com o grau de seleção praticada em tal população. Porém essa diferença entre os valores esperados e observados de heterozigose pode estar relacionada com a estrutura da população em endogamia, mesmo em se tratando da primeira geração de retrocruzamento.

Em trabalho desenvolvido por Trindade e Dantas (2008), um conjunto de 83 plantas oriundas de duas populações segregantes  $F_3$  e de germoplasma de mamoeiro, previamente selecionadas por apresentarem potencial de uso agrônomico, foram utilizadas na análise molecular de 27 primers de microssatélites, dos quais, vinte deles foram polimórficos, permitindo a identificação de 86 alelos, com média de 3,18 alelos por primer.

O conteúdo de informação do polimorfismo (PIC) estimado também pode ser empregado para quantificar o polimorfismo genético de cada loco na população segregante. Os valores encontrados foram baixos, variando de 0,15 a 0,37, com valor médio de 0,32. O menor valor encontrado foi para os locos SSR-70 e SSR-88, ambos com valores de 0,15, e o maior valor (0,37) foi encontrado para os oito locos distintos SSR-4, SSR-40, SSR-49, SSR-50, SSR-51, SSR-82, SSR-107 e SSR-114.

Tabela 1 – Características dos 20 pares de iniciadores microssatélites utilizados na análise de 19 genótipos Golden derivados de RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e de seus genitores

Loco	Sequência do primer (5' → 3')	Ta (°C)	Nº de alelos	H <sub>E</sub>	H <sub>O</sub>	PIC	I*
SSR – 4	GAATCACGCGATGAGTCACA	60	2	0,51	0,57	0,37	0,69
SSR – 8	GAAGCCTCAGTGAATCCAAA	60	2	0,45	0,28	0,34	0,63
SSR -10	TTTCTCCCACATGCACCACA	62	2	0,39	0,23	0,31	0,57
SSR – 20	CTCCAAGAAAACCTTTGACATGGG	60	2	0,45	0,09	0,34	0,63
SSR – 40	CGGTAGCGACTCATCGGACT	60	2	0,50	0,90	0,37	0,68
SSR – 41	TGGTGGATGTTGATGCATGTT	60	2	0,49	0,23	0,36	0,67
SSR – 49	GCAGTCTCTTCTCTCCAAGGTCA	63	2	0,45	0,28	0,34	0,68
SSR – 50	GCATGATGGTTCGGTTCAT	60	2	0,51	0,19	0,37	0,69
SSR – 51	AAAGATGACCGGAGCCGT	60	2	0,50	0,23	0,37	0,68
SSR – 70	TTCATCGTCTCGCTGAAATTGA	60	2	0,17	0,19	0,15	0,31
SSR – 76	AACCAGAACTCCAAAAAGAAATCC	60	2	0,47	0,71	0,35	0,65
SSR – 82	GACGTCAGCATAAACTGGCAA	60	2	0,51	0,70	0,37	0,69
SSR – 85	AGCACTGAGAAACGCCAAGC	60	2	0,28	0,33	0,23	0,45
SSR – 86	CCTTTGCATTGTCATGGCCT	60	2	0,43	0,33	0,33	0,61
SSR – 88	TGTTCTTCAATTGGTGAGAGTTTG	60	2	0,17	0,09	0,15	0,31
SSR – 89	TCAAATGGCTGAAGCAAAGG	60	2	0,34	0,14	0,28	0,51
SSR – 93	ATTTGACGTGGCAGCACCTT	60	2	0,37	0,28	0,29	0,54
SSR – 101	GGTTGGATTGCTTTGCCTTAAA	60	2	0,48	0,19	0,36	0,66
SSR – 107	GCAGCCCGTACAGAAGAGGA	60	2	0,39	0,23	0,31	0,57
SSR – 114	CACACACTCGCAATGGTAAAGAA	60	2	0,51	0,09	0,37	0,69
Média				0,42	0,31	0,32	0,60

Ta: temperatura de anelamento; H<sub>E</sub>: heterozigose esperada; H<sub>O</sub>: heterozigose observada; PIC: informação do conteúdo de polimorfismo; I\*: índice de Shannon

Tais valores de PIC encontrados nestes locos têm maior poder discriminatório entre os locos analisados, embora tenham apresentado valores moderados de PIC. Para Cruz et al. (2011), quanto maior o número de alelos mais o valor do PIC tende a se aproximar da heterozigose esperada.

Um índice que tem sido muito empregado em estudos de diversidade genética dentro de populações e que se parece com índice de riqueza genotípica é o Índice de Shannon (riqueza genotípica da população). Tal índice, proposto para medir a diversidade ou riqueza de espécies em ecologia (Alfenas, 1991),

também pode ser empregado como uma medida de diversidade fenotípica ou genotípica dentro de uma população (Picoli, 2004). Este índice define que quanto mais próximos da unidade forem os valores estimados, maior será a diversidade. Os valores do índice de Shannon (não apresentados), considerando os genótipos Golden avaliados, variaram de 0,31 a 0,69. O valor médio encontrado foi de 0,60, revelando então a existência de uma moderada variabilidade na população estudada, porém suficiente para a continuidade do programa de melhoramento, uma vez que se refere a plantas autofecundadas da primeira geração de retrocruzamento ( $RC_1S_1$ ).

A análise de diversidade entre os genótipos a partir das estimativas da heterozigosidade mostrou valores moderados a baixos, variando entre 0,05 a 0,60 com média de 0,32 (Tabela 2).

A análise dos índices genotípicos a partir da estimação dos valores da diversidade gênica permitiu constatar uma diversidade entre os genótipos da mesma população. Os valores encontrados para diversidade variaram de 0,04 a 0,49, com valor médio de 0,42.

Segundo Cruz et al. (2011), quando se trata de populações de retrocruzamento, há uma tendência ao decréscimo nos valores de PIC, índice de Shannon e heterozigose observada ao longo das gerações, o mesmo ocorrendo em relação ao avanço de gerações de autofecundação, levando a uma perda progressiva da variabilidade.

A análise do coeficiente de endogamia ou índice de fixação ( $f$ ) é um parâmetro de grande importância em programas de melhoramento visando ao desenvolvimento de linhagens, pois permite mensurar o nível de homozigose e heterozigose na população. A análise do coeficiente de endogamia entre os indivíduos autofecundados da primeira geração de retrocruzamento deste trabalho mostrou valores variando de -0,02 a 0,90, com valores médios de 0,36 (Tabela 2).

Tabela 2 – Genótipos derivados da autofecundação da primeira geração de retrocruzamento ( $RC_1S_1$ ) e os respectivos valores da diversidade gênica (DG), heterozigosidade (H), PIC e coeficiente de endogamia ( $f$ )

Indivíduo	Genótipos	DG	H	$f$
1	JS12	0,04	0,05	0,90
2	Golden	0,25	0,20	0,60
3	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -1	0,45	0,40	0,22
4	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -5	0,46	0,35	0,30
5	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -6	0,49	0,50	-0,01
6	30RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -10	0,46	0,45	0,06
7	31RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -21	0,42	0,35	0,32
8	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -1	0,45	0,25	0,51
9	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -8	0,45	0,40	0,21
10	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -14	0,46	0,15	0,70
11	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -18	0,42	0,30	0,36
12	33RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -19	0,46	0,35	0,32
13	34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -4	0,42	0,20	0,54
14	34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -16	0,34	0,05	0,89
15	34RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -21	0,43	0,25	0,50
16	37RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -7	0,48	0,25	0,50
17	37RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -10	0,36	0,15	0,69
18	37RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -14	0,49	0,35	0,32
19	38RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -7	0,49	0,60	-0,22
20	38RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -9	0,48	0,52	-0,02
21	38RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub> -12	0,48	0,60	-0,17
		0,42	0,32	0,36

DG: Diversidade gênica; H: Heterozigosidade;  $f$ : coeficiente de endogamia

Entre os genótipos parentais utilizados, o valor do coeficiente de endogamia foi de 0,90 para o JS12 (genitor recorrente) e de 0,60 para o Golden (genitor doador). Estes valores estão próximos ao esperado haja vista sua natureza genética. Foram encontrados alguns valores negativos para três

genótipos, o que não é comum de ser encontrado. No entanto, tais valores podem estar associados ao maior valor encontrado para heteroziguidade.

Considerando a geração de retrocruzamento em que os genótipos se encontram e o número de gerações de autofecundação, o coeficiente de endogamia médio observado pelos resultados corresponde a valores significativamente moderados a baixos, evidenciando assim que o nível de heteroziguidade é mantido com base nos locos microssatélites. Embora os genótipos avaliados sejam linhagens, esse resultado está dentro do esperado para as primeiras gerações de retrocruzamento em que ainda não se observa fixação de alelos, já que as análises foram desenvolvidas em genótipos pertencentes à geração  $RC_1S_1$ . Com o avanço de gerações, a tendência é aumentar esses valores do coeficiente de endogamia ou índice de fixação.

De acordo com Oliveira et al. (2010), o emprego dos marcadores microssatélites na seleção assistida pode ser um eficiente procedimento empregado para o desenvolvimento de linhas endogâmicas de mamão. Os autores analisaram 83 linhas puras e três populações segregantes de mamão através da seleção assistida por marcadores. Eles utilizaram 20 locos microssatélites polimórficos e encontraram valores de coeficiente de endogamia entre 0,63 e 1,00, sendo identificadas 11 linhas puras com 100% de endogamia, além de 18 linhagens com valores próximos ao máximo (0,95 e 0,96).

Através dos marcadores microssatélites, foi estimada a proporção média de recuperação do genoma do parental recorrente (PR), possível pela sua natureza codominante. Espera-se que, em relação a essa proporção média do genoma recorrente, cada geração  $t$  de retrocruzamento seja similar ao genitor recorrente na ordem de  $1-(1/2)^{t+1}$ , em termos de média (Allard, 1960). Considerando todos os genótipos avaliados pertencentes à geração  $RC_1S_1$ , a análise da proporção genômica parental na população revelou uma média de 64% do genoma do PR, com valores individuais variando bastante de 42 a 95% (Figura 1).

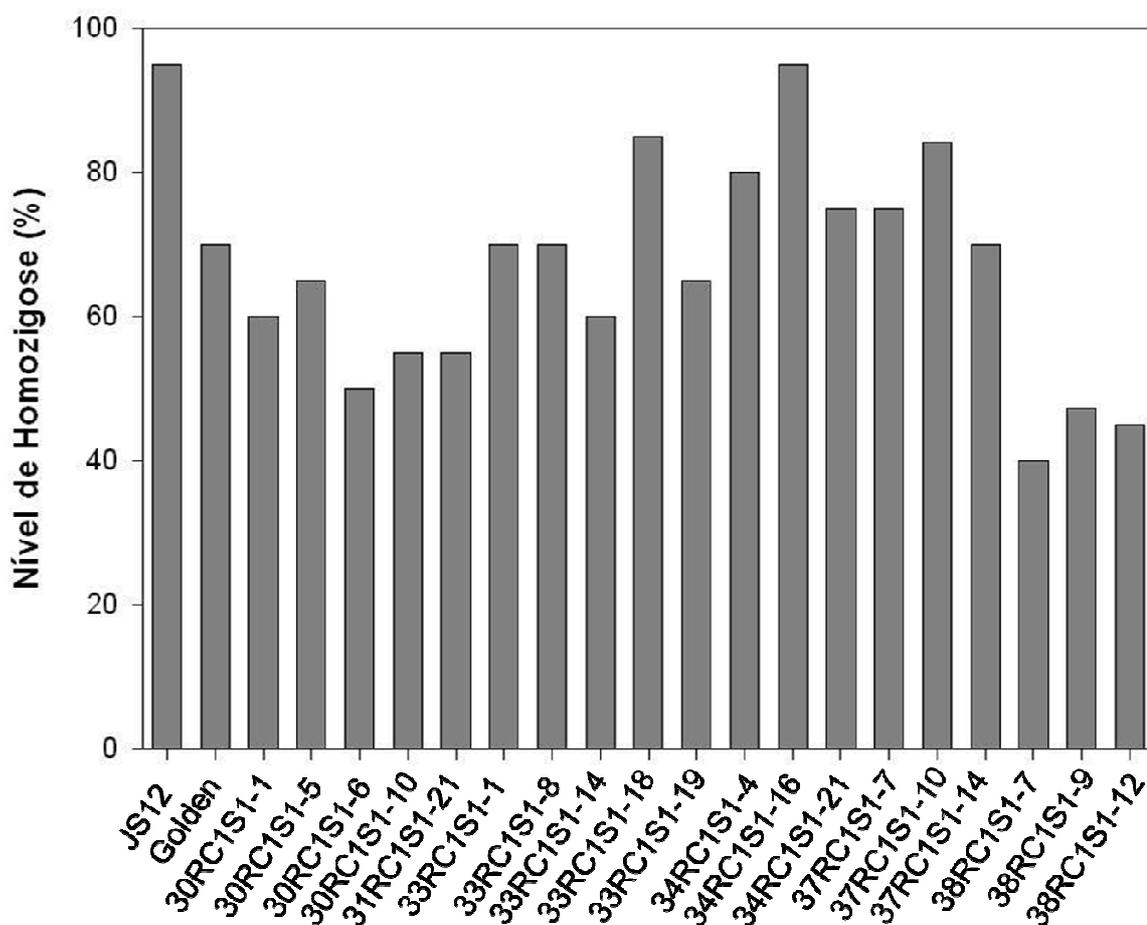


Figura 1 – Proporção genômica do parental recorrente (PR) nos dezoito genótipos possuidores da característica Golden pertencentes à geração RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>. 1- JS12 (parental recorrente) e 2- Golden (parental doador)

Observa-se, pela variação dos valores individuais da população, que alguns genótipos apresentam proporções genômicas do PR dentro do esperado e outros abaixo. Esse fato indica que a similaridade genômica de cada indivíduo Golden com o genitor recorrente depende tanto do número de gerações de retrocruzamento quanto do nível de recombinação à medida que avançam as gerações de autofecundação. Mediante os resultados obtidos, foi possível observar três genótipos possuidores da característica Golden com uma maior proporção do parental recorrente: 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-18 (90%), 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-16 (95%) e 37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10 (88%).

Segundo Frisch et al. (1999), uma justificativa proposta para estes resultados encontrados seria de que blocos gênicos ligados ao(s) gene(s) de interesse provenientes do genitor doador podem ser inseridos no genótipo recorrente contribuindo para que, ao longo das gerações, as proporções esperadas não sejam encontradas. Tais segmentos provenientes do doador podem carregar genes desfavoráveis. Neste caso, a seleção fenotípica juntamente com a seleção molecular pode aumentar a possibilidade de tais características serem excluídas do programa de melhoramento.

Ramos et al. (2011b) afirmam que a seleção com base em atributos fenotípicos pode ocasionar o desvio da seleção a favor do genitor doador, retardando a recuperação do genoma recorrente, justificando os valores abaixo do esperado.

De posse de tais resultados, é possível verificar genótipos com proporções genômicas satisfatórias, indicando que o programa obteve êxito em transferir à população o gene que confere a característica Golden, mostrando resultados aceitáveis.

Por meio da análise de agrupamento realizada nesse estudo, utilizando o método hierárquico vizinho mais próximo (Figura 2), considerando ainda o valor da distância genética de 0,5, foi possível a observação de quatro grandes grupos com os indivíduos Golden e os genitores recorrente e doador nas extremidades e mais distantes geneticamente. O grupo I reuniu, além do genitor recorrente (JS12) os indivíduos 37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10, 31RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-21, 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-1 e 37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-1. Estes indivíduos foram os mais próximos geneticamente do genitor recorrente (JS12), sendo possíveis candidatos à próxima seleção para avanço de geração de autofecundação e retrocruzamento. O segundo grupo reuniu os indivíduos 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-14, 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-18, 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-21, 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-4 e 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-16. O terceiro grupo, alocou a maioria dos indivíduos, sendo composto por 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-19, 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-6, 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-12, 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-9, 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-7, 37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-14, 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-8 e 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-7. Os indivíduos 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-5 e 37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-7 formaram o quarto grupo (IV), sendo estes indivíduos mais distantes geneticamente do genitor recorrente e mais próximos geneticamente do genitor doador (Golden).

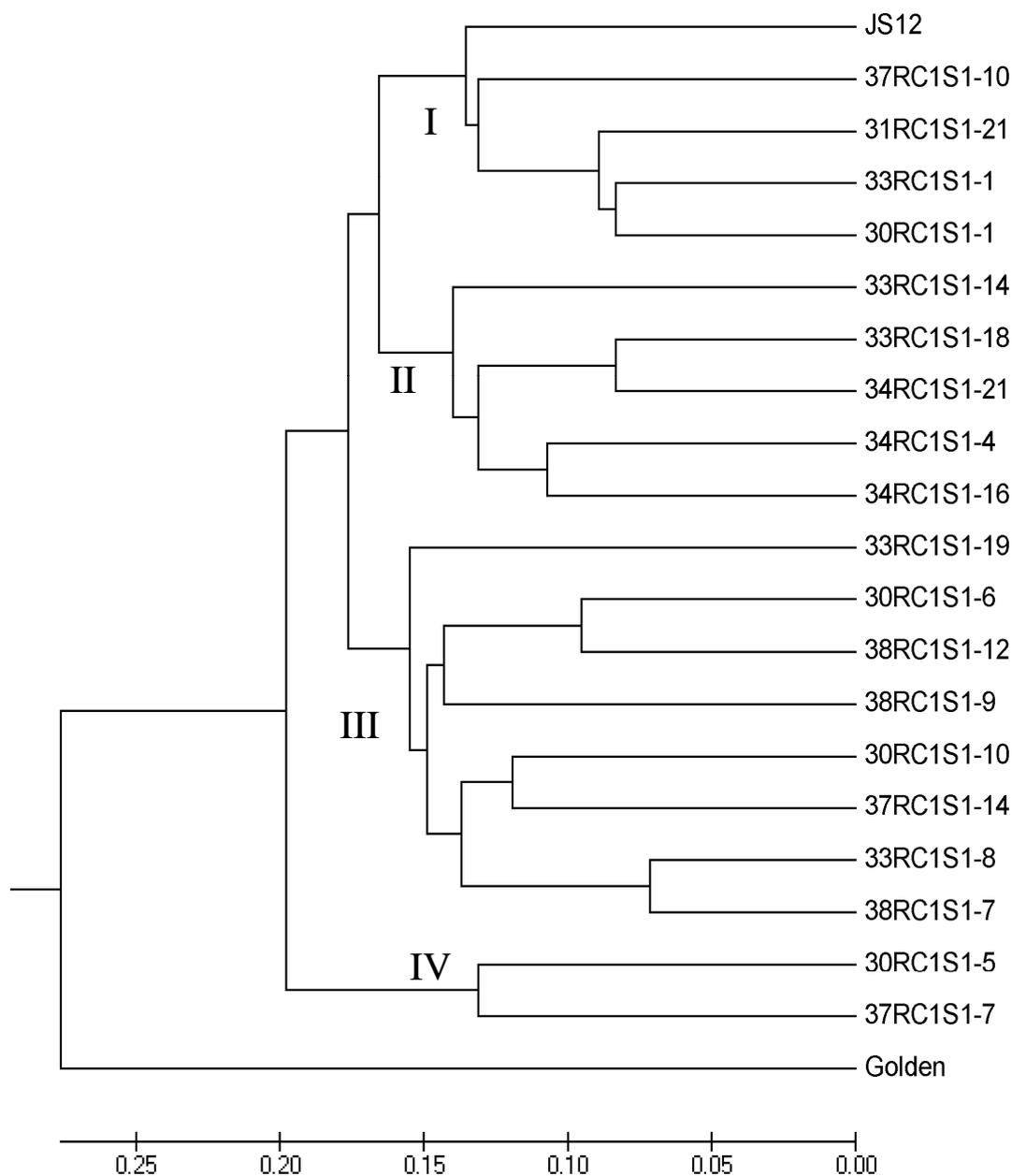


Figura 2 – Dendrograma de dissimilaridade obtido pelo método UPGMA, dos 19 genótipos com a característica Golden provenientes da geração ( $RC_1S_1$ ), além dos genótipos parentais JS12 e Golden. Coeficiente de correlação cofenética = 0,91

Em relação aos genitores utilizados neste trabalho, o agrupamento ocorreu de forma coerente, visto que os indivíduos pertencem à primeira geração de autofecundação do primeiro retrocruzamento e possuem aproximadamente 64%

do genoma do recorrente. Espera-se então que a cada geração de retrocruzamento seja aumentada a proporção do genitor recorrente.

A análise das relações genéticas entre os genótipos foi verificada também pela dispersão gráfica, via PCA (Principal Coordinate Analysis) (Figura 3).

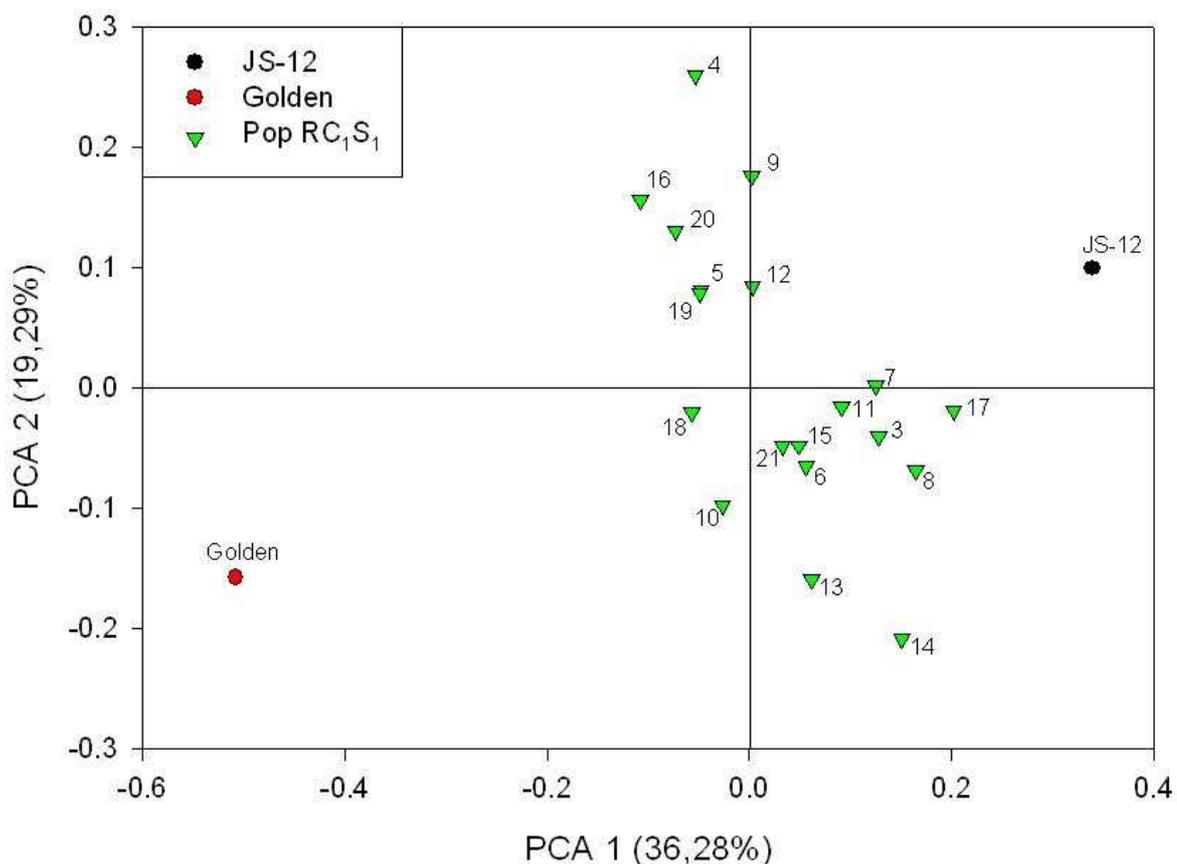


Figura 3 - Análise das Coordenadas Principais, considerando 19 genótipos de mamão derivados de retrocruzamento, o parental recorrente (JS12) e o parental doador (Golden), com base na matriz de distância obtida pela análise dos marcadores microssatélites

As duas primeiras coordenadas juntas explicaram 55,6% da variação total dos dados: 36,28% dessa variação foi explicada pela coordenada 1 e 19,29%, pela coordenada 2. Tais valores, apesar de serem considerados moderados, indicam uma confiabilidade da dispersão apresentada. Verifica-se uma separação entre os genótipos dos genitores recorrente (JS12) e o doador (Golden) e ainda foi possível verificar que os indivíduos possuidores da característica Golden estão dispersados mais próximos do genitor recorrente do que o genitor doador, como

já era esperado, pois os genótipos avaliados pertencem à primeira geração de retrocruzamento apresentando aproximadamente 64% do genoma do recorrente, como confirmado pela análise das proporções genômicas do parental recorrente. Neste caso, pode-se lançar mão ainda da comparação das análises moleculares e das avaliações fenotípicas para permitir uma maior eficácia na seleção dos genótipos superiores, mais próximos do genitor recorrente. De acordo com Ramos et al. (2011b), o uso dos marcadores microssatélites como estratégia auxiliar à análise fenotípica desponta como um método vantajoso, o qual poderá proporcionar uma maior efetividade no processo de retrocruzamento.

A análise da estrutura genética dos indivíduos autofecundados da primeira geração de retrocruzamento via auxílio do programa *Structure* foi obtida pela escolha do K ótimo igual a dois, que correspondeu a uma mudança abrupta no gráfico obtido (Figura 4) e permitiu a distinção dos indivíduos da população em duas regiões genômicas diferentes (vermelha e verde) como demonstrado pela Figura 5.

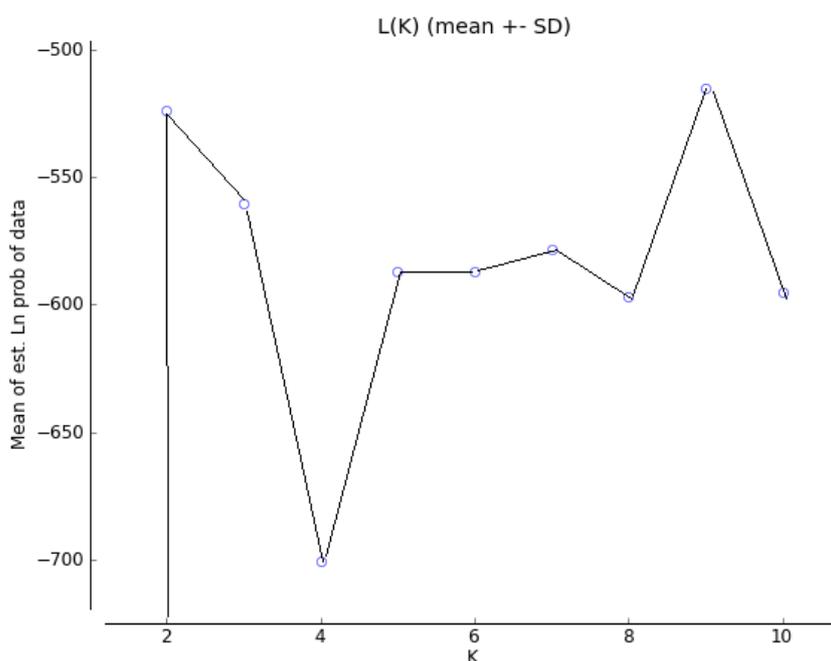


Figura 4 – Gráfico com a obtenção do K ótimo para análise da estrutura genética dos indivíduos RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>

De acordo com tais resultados, verifica-se claramente a distinção entre os genitores recorrente (JS12) e doador (Golden) pelas diferentes cores das regiões genômicas (vermelha e verde). É possível verificar ainda a distinção de cada

indivíduo Golden da população, alguns com regiões genômicas mais similares ao genitor recorrente e outros apresentando regiões genômicas mais similares ao genitor doador (Figura 5 A). Foi possível observar que a maioria dos genótipos avaliados apresentaram maior similaridade, em média, com o genitor recorrente JS12, confirmando o gráfico obtido pelo PCA, e quando observada em termos de população, verifica-se uma estruturação dentro dela, o que já era esperado, pois se trata da mesma população analisada, porém com diferentes proporções dos genitores parentais (recorrente e doador). De acordo com a Figura 5 B, os indivíduos com regiões genômicas mais similares ao genitor recorrente, de acordo com sua estruturação genética, foram os genótipos 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-16, 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-1, 37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10, 31RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-21, 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-18, 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-4, 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-1, 34RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-21, 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-14, 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10 e 38RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-12, representando 58% do total de indivíduos com a característica Golden desta população.

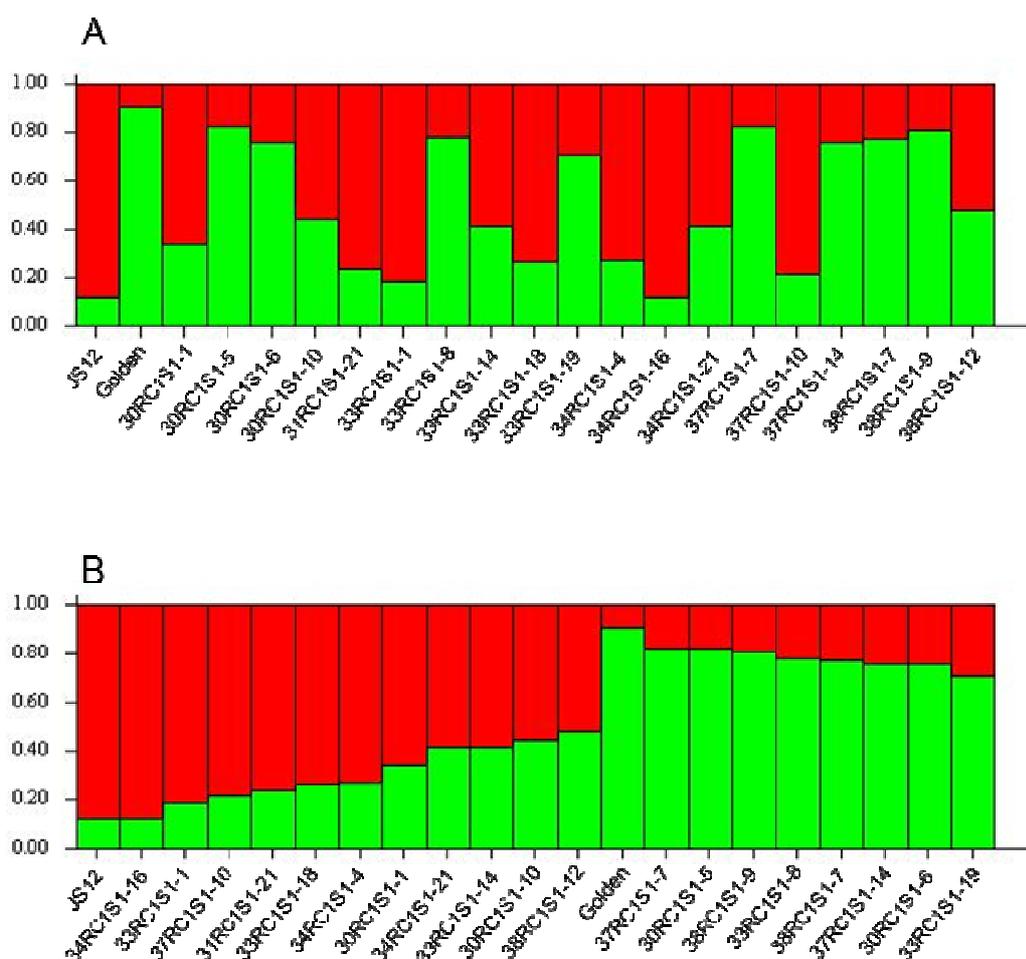


Figura 5 - Análise da estruturação genética dos 19 genótipos de mamão e dos genótipos parentais JS12 (recorrente) e Golden (doador). A – Estruturação genética com distribuição dos parentais nas primeiras canaletas e a população em seguida; B – Ordenamento dos indivíduos mais similares ao JS12 e ao Golden a partir da estruturação genética

Tais resultados são concordantes com as estimativas de diversidade e com a anotação dos alelos do genitor recorrente nas progênes, e comparando com as estimativas de diversidade obtidas pelo método UPGMA, os quatro indivíduos 37RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-10, 31RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-21, 33RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-1, 30RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>-1 coincidem na similaridade com o genitor recorrente, e possivelmente poderão ser selecionados para o avanço de gerações. Almeida (2007), trabalhando com espécies de algodoeiro, e Ramos (2011), trabalhando com mamão, verificaram que o procedimento básico para determinar como uma dada espécie está geneticamente estruturada é a análise das populações via marcadores moleculares, afirmando que marcadores do tipo microssatélites são utilizados nesse sentido porque apresentam elevado nível de polimorfismo e expressão codominante.

A análise da constituição genômica dos indivíduos indica que o objetivo da transferência do caráter Golden para o JS12 tem sido alcançado, tendo em vista os valores obtidos para proporção parental recorrente encontrados em alguns genótipos da geração RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>. Dessa forma, há a possibilidade de obter dentro de poucas gerações de autofecundação linhagens do JS12 na versão Golden, agronomicamente superiores, que serão posteriormente utilizadas em cruzamentos com o SS72/12 também na versão Golden e obtenção do híbrido 'Calimosa' na versão Golden. A transferência do caráter Golden para o SS72/12 (outro genitor do Calimosa) não foi avaliada no presente trabalho, mas a população vem sendo conduzida pelo grupo de melhoramento do mamoeiro da UENF.

Diante dessa perspectiva da obtenção futura do híbrido Calimosa com a característica Golden, os resultados evidenciam a necessidade do avanço de gerações de autofecundação para obter os índices de coeficiente de endogamia desejáveis nas progênes. Por outro lado, a moderada variabilidade presente nas gerações RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> se mostraram satisfatórias para a continuidade do programa de melhoramento, possibilitando a obtenção de ganhos genéticos com a seleção de genótipos com a característica Golden, agronomicamente superiores. Diante disso, evidencia-se a importância de monitorar efetivamente a seleção com marcadores moleculares, especialmente os microssatélites, contribuindo para economia de tempo e recursos financeiros no processo de desenvolvimento de novos materiais genéticos.

## 3.3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfenas, A. C. (1991) Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos de essências florestais. Viçosa, UFV. 242p.
- Allard, R. W. (1960) Principles of plant breeding. Wiley. New York. Chan, Y-K. (2009) Breeding papaya (*Carica papaya* L.) In: *Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species*. Jain, SM; Priyadarshan, PM (eds.). Malaysia.
- Almeida, V. C. (2007) Caracterização genética e *in situ* de *Gossypium barbadense* na região norte do Brasil. 67 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular)- Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Departamento de Biologia Celular e Genética. Natal.
- 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.
- 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.
- Cruz, C. D. (2008) *Programa GENES: diversidade genética*. Viçosa: Ed.UFV. 278p.
- Cruz, C. D.; Ferreira, F. M.; Pessoni, L. A. (2011) *Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética*, Viçosa: Ed.UFV, 192p.

- Damasceno Junior, P. C.; Costa, F. R.; Pereira, T. N. S.; Freitas Neto, M.; Pereira, M. G. (2009) Karyotype determination in three Caricaceae species emphasizing the cultivated form (*C. papaya* L.). *Caryologia*, 62: 10-15.
- 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.
- Frisch, M.; Bohn, M.; Melchinger, A. E. (1999) Comparison of selection strategies for marker-assisted backcross of a gene. *Crop Science*, 39: 1295-1301.
- Hospital, F.; Charcosset, A. (1997) Marker-assisted introgression of quantitative trait locos. *Genetics* 147: 1469-1485.
- Kim, M. S.; Moore, P. H.; Zee, F.; Fitch, M. M. M. Steiger, D.; Manshardt, R.; Paull, R.; Drew, R.; Sekioka, T.; Ming, R. (2002) Genetic diversity of *Carica papaya* as revealed by AFLP markers. *Genome*, 45: 503-512.
- Kumar, S.; Nei, M.; Dudley, J.; Tamura, K. (2009) MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Brief Bioinform*, 9: 299-306.
- Liu, Z.; Moore, P. H.; Ma, H.; Ackerman, C. M.; Ragiba, M.; Yu, Q.; Peari, H. M.; Kim, M. S.; Chariton, J. W.; Stiles, J. I.; Zee, F. T.; Andrew, A. H.; Ming, R. (2004) A primitive Y chromosome in papaya marks incipient sex chromosome evolution. *Nature* 427: 348-352.
- Liu, K.; Muse, S. V. (2005) PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 21: 2128–2129.
- Ma, H.; Moore, P. H.; Liu, Z.; Kim, M. S.; Yu, Q.; Fitch, M. M. M. (2004) Highdensity linkage mapping revealed suppression of recombination loco in papaya. *Genetics*, 166: 419-436.

- Ming, R.; Yu, Q.; Bias, A.; Chen, C.; Na, J.; Moore, P. H. (2008) Genomics of papaya, a common source of vitamins in the tropics. In: *Genomics of tropical crop plants*. (Eds.) Moore P.H. and Nilno R. Urbana, USA.
- Oliveira, E. J.; Silva, A. S.; Carvalho, A. M.; Santos, L. F.; Costa, J. L.; Amorim, V. B. O.; Dantas, J. L. L. (2010) Polymorphic microsatellite marker set for *Carica papaya* L. and its use in molecular-assisted selection. *Euphytica*. 173: 279-287.
- Peakall, R.; Smouse, P. (2009) GenAIEx Tutorials – Part 1: Introduction to Population Genetic Analysis. Australian National University, Australia.
- Picoli, E. A. T. Influence of RAPD number of marker and sample size on Eucalyptus genetic distance and diversity. *Crop Breeding an Applied Biotechnology*. V.4, p. 384- 390. 2004.
- Pritchard, J. K.; Stephens, P. D. P. (2007) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. v.155, p. 945-959.
- Pritchard, J. K.; Stephens, M.; Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multiloco genotype data. *Genetics*, 155: 945-959.
- Ramos, H. C. C.; Pereira, M. G.; Silva, F. F.; Viana, A. P; Ferregueti, G. A. (2011) Seasonal and genetic influences on sex expression in a backcrossed segregating papaya population. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* ,11: 97-105.
- Ramos, H. C. C.; Pereira, M. G.; Silva, F. F.; Gonçalves, L. S. A.; Pinto, F. O.; de Souza Filho, G. A. and Pereira, T. S. N. (2011b) Genetic characterization of papaya plants (*Carica papaya* L.) derived from the first generation of backcross. *Genetic and Molecular Research*, 10: 393-403.
- Silva, F. F.; Pereira, M. G.; Campos, W. F.; Damasceno Júnior, P. C.; Pereira, T. N. S.; Souza Filho, G. A.; Ramos, H. C. C.; Viana, A. P.; Ferregueti, G. A.

(2007) DNA marker-assisted sex conversion in elite papaya genotype (*Carica papaya* L.). *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 7:52-58.

Silva, F. F.; Pereira, M. G.; Ramos, H. C. C.; Damasceno Júnior, P. C.; Pereira, T. N. S.; Gabriel, A. P. C.; Viana, A. P.; Ferregueti, G. A. (2008) Selection and estimation of the genetic gain in segregating generations of papaya (*Carica papaya* L.). *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 8: 1-8.

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.

Stiles, J. I.; Lemme, C.; Sondur, S.; Morshidi, M. B.; Manshardt, R. (1993) Using randomly amplified polymorphic DNA for evaluating genetic relationships among papaya cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 85: 697-701.

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

Trindade, A. V. T.; Dantas, J. L. L. (2008) Embrapa Mandioca e fruticultura tropical: programa de pesquisa e resultados obtidos com a cultura do mamão. Papaya Brasil. Vitória, ES.

Yeh, F. C.; Boyle, T.; Rongcai, Y.; Ye, Z.; Xiyang, J. M. (1999) *POPGENE*. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis. Version 1.31, Manual.

Yu, Q.; Hou, S.; Feltus, F. A.; Jones, M. R.; Murray, J. E.; Veatch, O.; Lemke, C.; Saw, J. H.; Moore, R. C.; Thimmapuram, J.; Liu, L.; Moore, P. H.; Alam, M.; Jiang, J.; Paterson, A. H.; Ming, R. (2008) Low X/Y divergence in four pairs of papaya sex-linked genes. *The Plant Journal* 53:124-132.

#### 4. RESUMOS E CONCLUSÕES

A notável importância econômica da espécie *Carica papaya* L. em relação ao baixo número de variedades comerciais bem como a crescente pressão do mercado por produtos de melhor qualidade revelam uma séria necessidade de desenvolvimento de novas cultivares. Embora o Brasil detenha um destaque na produção mundial de mamão, ainda é grande o desafio para ampliar a base genética da espécie cultivada, proporcionando redução da vulnerabilidade da cultura e garantindo a disponibilização aos agricultores de novos materiais genéticos de alta qualidade, que possam competir no mercado com cultivares já existentes. No entanto, existe ainda um grande potencial para ampliar a variabilidade genética dos campos de produção através de programas de melhoramento genético, contribuindo com a solução de problemas agrônômicos. A qualidade do mamão produzido no Brasil tem sido comprometida pela ocorrência da “Mancha Fisiológica do Mamoeiro”, diante disso, a obtenção de material genético tolerante, como, por exemplo, a cultivar ‘Golden’, visa a minimizar os prejuízos decorrentes da ocorrência desse distúrbio. Para tanto, torna-se de grande relevância a condução de programas que possibilitem o desenvolvimento de novas combinações gênicas e a geração de populações segregantes. Essas estratégias aumentam as chances de identificar e selecionar materiais genéticos promissores. A crescente disponibilidade de informações biotecnológicas, somada à redução de custos, tem possibilitado a adoção de técnicas moleculares eficientes que, associadas aos procedimentos clássicos de

melhoramento, podem gerar conhecimentos genéticos fundamentais para o desenvolvimento de novas cultivares. Tais técnicas possibilitam a redução de tempo e de custos no desenvolvimento de novos materiais genéticos, além de prover importantes informações genéticas livres dos efeitos ambientais que auxiliam o melhorista na tomada de decisão. Assim, nesta pesquisa, teve-se por objetivo conduzir progênies segregantes de mamoeiro, associando técnicas clássicas e moleculares para auxiliar na identificação e seleção de genótipos superiores.

De posse dessas informações, o presente trabalho teve como objetivo obter materiais tolerantes à mancha fisiológica através da condução de progênies segregantes derivadas da autofecundação de plantas pertencentes à primeira geração de retrocruzamento com o auxílio de procedimentos clássicos e moleculares, a fim de identificar e selecionar genótipos superiores com a característica Golden para o avanço de gerações.

Os resultados dos três trabalhos aqui apresentados permitiram detectar, nas progênies avaliadas, estimativas de variabilidade genética variando de baixa a moderada. No primeiro estudo foram considerados dados morfoagronômicos para analisar a dissimilaridade genética primeiramente entre 123 plantas hermafroditas de mamoeiro pertencentes a progênies segregantes para a característica Golden e, posteriormente, somente nos indivíduos possuidores da característica Golden. Os resultados obtidos permitiram indicar e selecionar três indivíduos promissores ao avanço de geração, portadores da característica Golden, através da utilização do algoritmo Gower, que se mostrou coerente na discriminação das progênies avaliadas e uma ferramenta a ser empregada em estudos de dissimilaridade genética na cultura do mamoeiro.

A avaliação realizada entre e dentro das progênies utilizando a metodologia dos modelos mistos evidenciou que a população dispõe de moderada variabilidade, havendo possibilidades reais de progressos genéticos com a adoção de procedimentos de seleção apropriados. Foi utilizado o índice IG2 para realizar a seleção, o qual considera o valor genético do indivíduo. A utilização deste índice IG2 evitou o efeito de escala, permitindo a seleção de progênies e genótipos com desempenho satisfatório para uma série de atributos, e não apenas para a variável de maior valor mensurado. Assim, foi possível identificar as oito melhores progênies que segregaram para a característica Golden e dentro

delas, a seleção de 20 genótipos com a característica Golden superiores com ganhos preditos maiores do que a melhor testemunha, confirmando a possibilidade de progresso genético.

A caracterização molecular de genótipos de mamoeiro derivados de RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> via marcadores microssatélites buscou o monitoramento do nível de homozigose e transferência do gene/alelo que confere a característica Golden, bem como o monitoramento da proporção genômica do genitor recorrente nos genótipos avaliados. Foram analisados 20 *locos* microssatélites em 21 genótipos de mamoeiro, sendo 19 genótipos possuidores da característica Golden, pertencentes à RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, além dos genótipos parentais. A análise genômica revelou valores médios do genoma parental recorrente de 64%. Tanto o nível de endogamia quanto as proporções genômicas, apesar de apresentarem valores médios abaixo do esperado, apontaram indivíduos com níveis satisfatórios de homozigose e com proporções genômicas do parental recorrente dentro do esperado, criando a expectativa de obter dentro de poucas gerações de autofecundação linhas endogâmicas muito próximas do genitor recorrente. Porém, o monitoramento efetivo através dos marcadores moleculares deve ser feito para auxiliar na redução de tempo na obtenção dos materiais superiores com a característica Golden, bem como direcionando para que sejam selecionados indivíduos com as proporções genômicas desejadas.

Com o desenvolvimento do presente trabalho, foi possível a transferência do caráter Golden para o genótipo JS12. A transferência do caráter Golden para o outro genitor do 'Calimosa', o SS72/12, já vem sendo conduzida pelo grupo de melhoramento do mamoeiro da UENF, visando à futura obtenção do híbrido 'Calimosa' na versão Golden.

Diante desses fatos, ressaltam-se a importância e as contribuições tanto das avaliações clássicas como das análises moleculares, permitindo, assim, continuidade ao melhoramento populacional do mamoeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIANUAL (2011) Anuário da agricultura brasileira. Mamão. São Paulo: FNP, consultoria e Agroinformativos, p. 325-332.
- Akin-Osanaiye, B. C.; Nzelibe, H. C.; Agbaji, A. S. (2005) Production of ethanol from *Carica papaya* (pawpaw) agro waste: effect of saccharification and different on ethanol yield. *African Journal of Biotechnology*, 4: 657-659.
- Albertini E., Torricelli, R., Bitocchi, E., Raggi, L., Marconi, G., Pollastri, L., Battistini, A., Papa, R., Veronesi, F. (2011) Structure of genetic diversity in *Olea europaea* L. cultivars from central Italy. *Molecular Breeding* 27: 533-547.
- Allard, R. W. (1971) *Princípios do melhoramento genético das plantas*. São Paulo. 381 p.
- Arkle Junior, T. D.; Nakasone, H.Y. (1984) Floral differentiation in the hermaphroditic papaya. *Horticultural Science* 19: 832-834.
- Arumuganathan, K.; Earle, E. D. (1991) Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant and Molecular Biology Rep.* 9: 208-218.

- Badillo, V.M. (1971) Monografía de la familia Caricaceae. Maracay, Venezuela: Editora Nuestra América C.A., 221p.
- Badillo, V. M. (1993) Caricaceae. Segundo esquema. *Rev. Fac. Agron.*, 43: 1-111.
- Badillo, V. M. (2000) *Carica L. vs Vasconcellea St. Hil. (Caricaceae) com La rehabilitacion de este ultimo. Ernstia*, 10:74-79.
- Bernardo, R. (2002) *Breeding for quantitative traits in plant*. Woodbury: Stemma Press.
- Borém, A. (2001) Melhoramento de plantas. Viçosa: UFV, 547p.
- Cattaneo, L.F. (2001). Avaliação da divergência genética e análise de gerações em mamoeiro (*Caricapapaya L.*). Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense-UENF, 94p.
- Chan, Y. K.; Toh, W. K. (1988) Resistance to papaya fruit freckles among three breeding lines and their hybrids. *MARDI Research Journal, Malaysian*, 6: 103-107.
- 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.
- Chinoy, N. J.; D'Souza, J. M.; Padman, P. (1994) Effects of crude aqueous extract of *Carica papaya* seeds in male albino mice. *Reproductive Toxicology*, 8: 75-79.
- Cockerham, C. (1956) Effects of linkage on the covariances between relatives. *Genetics* 41: 138-141.

- Costa, R.B.; Resende, M.D.V. de; Araujo, A. J. Gonçalves, P. de S. (1999) BLUP individual e índice multi-efeito aplicados ao melhoramento da seringueira. In: Anais do Simpósio de Recursos Genéticos Para América Latina e Caribe, 2nd, Brasília, 1999. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília. CD-ROM.
- 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.
- Cruz, C. D.; Regazzi, A. J. (1997) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genéticos. Viçosa. UFV, 390p.
- Cruz, C. D.; Regazzi, A. J. (2001). Métodos biométricos aplicados ao melhoramento genético, 2ª ed. Ver. Viçosa: UFV. 390p.
- Damasceno Júnior, P. C.; Costa, F. R.; Pereira, T. N. S.; Freitas Neto, M.; Pereira, M. G. (2009) Karyotype determination in three Caricaceae species emphasizing the cultivated form (*C. papaya* L.). *Caryologia*, 62: 10-15.
- Damasceno Júnior, P. C. (2008) Estudos Citogenéticos, genéticos e moleculares Como ferramenta auxiliar no melhoramento do mamoeiro. Tese apresentada a UENF. Campos dos Goyacazes. 151p.
- Dantas, J. L. L.; Oliveira, E. J. (2009) O melhoramento genético do mamoeiro: avanços, desafios e perspectivas. In: I Simpósio Nordeste de Genética e Melhoramento de Plantas, 2009, Fortaleza - CE. O melhoramento genético no contexto atual. Fortaleza - CE : Embrapa Agroindústria Tropical, 1: 151-180.
- Dantas, J. L. L.; Castro Neto, M. T. (2000) Aspectos botânicos e fisiológicos. In: Trindade, A.V. Mamão. Produção: aspectos técnicos. Brasília: EMBRAPA-CNPMFT, p. 11-14.

- Dantas, J. L. L.; Dantas, A. C. V. L.; Lima, J. F. (2002). Mamoeiro. In: Bruckner, C. H (Ed.) *Melhoramento de fruteiras tropicais*. Viçosa, UFV. p. 422.
- Dantas, J. L. L.; Lima, J. F. (2001) Seleção e recomendação de variedades de mamoeiro - avaliação de linhagens e híbridos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23: 617-621.
- Eloisa, M.; Reyes, Q.; Paull, R.E. (1994) Skin freckles on solo papaya fruit. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, 58: 31-39.
- Emeruwa, A. C. (1982) Anti-bacterial substance from *Carica papaya* fruit extract. *Journal of Natural Products*, 45: 123-127.
- Falconer, D.S. (1987) Introdução à genética quantitativa. Viçosa, UFV, 279p.
- FAO (2011) Disponível em: [www.faostat.org.br](http://www.faostat.org.br) acesso em: 06 de junho de 2011.
- Farias Neto, J. T; Resende, M. D. V. (2001) Aplicação da metodologia de modelos mistos (REML/BLUP) na estimação de componentes de variância e predição de valores genéticos em pupunheira (*Bactris gasipaes* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23: 320-324.
- Ferreira, M. E.; Grattapaglia, D. (1998) Introdução ao uso de marcadores moleculares. 3ª ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, p. 220.
- Giacometti, D. C.; Mundim, L. B. (1953) Melhoramento do mamão (*Carica papaya* L.). Boletim de Agricultura, 2ª Ed, Belo Horizonte: MG, N. 5 e 6, 32p. 114
- Gomes Filho, A.; Oliveira, J. G., Viana, A. P., Pereira, M. G. (2008) Mancha fisiológica e produtividade do mamão Tainung 01: efeito dalâmina de irrigação e cobertura do solo, *Ciência e agrotecnologia*, Lavras, 32: 1161-1167.
- Guimarães, C. T.; Paiva, E. (2003) Avaliação da pureza genética em sementes de milho utilizando marcadores microssatélites. Circular Técnica. 3p.

- Gupta, P.K.; Varshney, R. K. (2000) The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica*, 113: 163-185.
- Henderson, C. R. (1949) Estimates of changes in herd environment. *J. Dairy Sci.* 32:706.
- Hofmeyer, J. D. J. (1938) Genetical studies of *Carica papaya* L., Africa Dept. Agric. For. Sci. Bull., 187: 1-64.
- Hofmeyr, J. D. J. (1967) Some genetic breeding aspects of *Carica papaya* L. *Agronomia Tropical*, 17:345–51.
- Horovitz, S. (1954) Determinacion del sexo en *Carica papaya* L. Estructura hipotetica de los cromossomas sexuales. *Agronomia Tropical*, 3: 229-249.
- Horovitz, S.; Giménez, H. (1967) Cruzamientos interespecificos e intergenericos em caricaceas y sus implicaciones fitoteticas. *Agronomia Tropical*, 17: 323–43.
- Ide, C. D.; Pereira, M.G.; Viana, A..P; Pereira, T.N.S. (2009) Use of testers for combining ability and selection of papaya hybrids. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 9: 60-66.
- Ishii, Y., Holtzmann, O.W. (1963) Papaya mosaic disease in Hawaii. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, 47: 947-951.
- Kaiser, C.; Allan, P.; White, B.J.; Dehrmann, F.M. (1996) Some morphological and physiological aspects of freckle on papaya (*Carica papaya* L.) fruit. *Journal of South African Society Horticulture Science*, South African, 6: 37-40.
- Lassoudière, A. (1968) Le papayer: description et génétique. *Fruits*, 23:585-596.

- Liberato, J.R.; Zambolim, L. (2002) Controle das doenças causadas por fungos, bactérias e nematóides em mamoeiro. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; MONTEIRO, A.J.A.; COSTA, H. (Ed.) Controle de doenças de plantas fruteiras. Viçosa, p.1023-1170.
- Liu, Z.; Moore, P. H.; Ma, H., Ackerman, C. M.; Ragiba, M.; Yu, Q.; Peari, H. M.; Kim, M. S.; Chariton, J. W.; Stiles, J. I.; Zee, F. T.; Andrew, A. H.; Ming, R. (2004) A primitive Y chromosome in papaya marks incipient sex chromosome evolution. *Nature*, 427: 348-352.
- Lorencetti, C.; Carvalho, F. I. F.; Oliveira, A. C.; Valério, I. P.; Hartwig, I; Marchioro, V. S.; Vieira, E. A. (2006) Backcross as a strategy to identify genotypes and develop promising oat segregating population. *Ciência Rural*, 36:1118-1125.
- Ma, H.; Moore, P. H.; Liu, Z.; Kim, M. S.; Yu, Q.; Fitch, M. M. M. (2004) Highdensity linkage mapping revealed suppression of recombination loco in papaya. *Genetics*, 166: 419-436.
- Machado Filho, J.A. (2002) Estudos ecofisiológicos de dois genótipos demamoeiro (*Carica papaya* L.) cultivados sob condições de campo no cerrado baiano. 2002. 70f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Universidade de Brasília, Brasília.
- Marin, S. L. D.; Gomes, J. A. (1987 b) Sexagem do mamoeiro e sua aplicação no desbaste de plantas. 2 ed., Vitória, ES: EMCAPA,. 20p. (EMCAPA. Circular Técnica, 11).
- Marin, S. L. M.; Pereira, M. G.; Amaral Júnior, A. T.; Martelleto, L. A. P.; Ide, C. D. (2006) Heterosis in papaya hybrids from partial diallel of 'Solo' and 'Formosa' parents. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 6:24-29.

- Martins, D. Dos S.; Costa, A. De F. S. da. (eds.) (2003) A cultura do Mamoeiro: tecnologias de produção. In: A cultura do mamão no mundo, no Brasil e no Estado do Espírito Santo. Vitória, ES: Incaper, p. 13-21.
- Milach, S. C. K. (1998) Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. In: S.C.K. Milach (ed.). *Marcadores moleculares em plantas*. Porto Alegre, UFRGS, p. 17-28.
- Milach, S.C.K (2006) Marcadores de DNA, [http://biotecnologia.com.br/bio05/marcador\\_esdna](http://biotecnologia.com.br/bio05/marcador_esdna), acessado em 10/03/06. Página mantida pela *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*.
- Ming, R.; Yu, Q.; Moore, P. H. (2007) Sex determination in papaya. *Seminars in Cell and Development Biology*, 18: 401-408. Okeniyi, J. A.; Ogunlesi, T. A.; Oyelami, A. O.; Adeyemi, L. A. (2007) Effectiveness of dried *Carica papaya* seeds against human intestinal parasitosis: A pilot study. *Journal of Medicinal Food*, 10: 194-196.
- Morgante, M., Hanafey, M., Powell, W. (2002) Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. *Nature Genetics*, 30:194-200.
- Morgante, M.; Olivieri, A. M. (1993) PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *The Plant Journal*, 3: 175-182.
- Nakasone, H. Y.; Arkle Junior, T. D. (1971) Development of intra-ovarian ovaries in *Carica papaya* L. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 96(5): 550-553.
- Nakasone, H. Y.; Crozier Junior, J.A.; Ikehara, D. K. (1972) Evaluation of "Waimanalo", a new papaya strain. *Hawaii Agr. Exp. Sta. Tech. Bull.*, 79: 1 – 12.

- Ocamp, J.A., Dambier, D., Ollitault, P., d'Eeckenbrugge, G.C. (2004) Development of Microsatellite Markers in Papaya: Isolation, Characterization and Cross Amplification in Mountain Papayas. *Proc. Intramer. Soc. Trop. Hort.* 48: 90-93.
- Oliveira, E. J.; Pádua, J. G.; Zucchi, M. I.; Vencovsky, R.; Vieira, M. L. C. (2006) Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genetics and Molecular Biology*, 29: 294-307.
- Oliveira, E. J.; Silva, A. S.; Carvalho, A. M.; Santos, L. F.; Costa, J. L.; Amorim, V. B. O.; Dantas, J. L. L. (2010) Polymorphic microsatellite marker set for *Carica papaya* L. and its use in molecular-assisted selection. *Euphytica*, 173: 279-287.
- Oliveira, J. G.; Silva, R. F. (2003) I Reunião de Pesquisa do FRUTIMAMÃO. Campos dos Goytacazes, (Boletim Técnico, 1) CD-ROM.
- Oliveira J. G.; Pereira, M. G.; Martelleto, L. A. P.; Ide, C. D. (2005) Mancha fisiológica do mamão: uma perspectiva de obtenção de material genético tolerante. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 27: 458- 461.
- Parasnis, A. S.; Ramakrishna, W.; Chowdari, K. V.; Gupta, V. S.; Ranjekar, P. K. (1999) Microsatellite (GATA)<sub>n</sub> reveals sex-specific differences in papaya. *Theoretical and Applied Genetics*, 99: 1047-1052.
- Patterson, H. D.; Tompson, R. (1971) Recovery of inter-block information when block sizes are unequal. *Biometrika*, 58:545-554.
- Powell, W.; Machray, G.C.; Provan, J. (1996) Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends Plant Science*, 1: 215-222.
- Rallo, P.; Dorado, G.; Martín, A. (2000). Development of simple sequence repeats (SSRs) in olive tree (*Olea europaea* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 101: 984-989.

- Ramalho, M. A. P.; Pirola, L. H.; Abreu, A. F. B. (1999) Alternativas na seleção de plantas de feijoeiro com porte ereto e grãos tipo carioca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 32: 1989-1994.
- Ramalho, M.A.P.; Santos, J.B. (2000) Genética na agropecuária. Lavras-MG : UFLA, 472p.
- Ramos, H. C. C.; Pereira, M. G.; Silva, F. F.; Viana, A. P; Ferreguetti, G. A. (2011) Seasonal and genetic influences on sex expression in a backcrossed segregating papaya population. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* ,11: 97-105.
- Ramos, H. C. C.; Pereira, M. G.; Silva, F. F.; Gonçalves, L. S. A.; Pinto, F. O.; de Souza Filho, G. A. and Pereira, T. S. N. (2011b) 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.; Silva, F. F.; Viana, A. P. (2011a) Seasonal and genetic influences on sexual expression in segregating papaya population derived from backcross. *Crop Breeding and Applied Biotechnology (no prelo)*.
- Resende, M. D. V. (2002a) Software Selegen–REML/BLUP. Curitiba: Embrapa, 67 p. (Documentos, 77).
- Resende, M. D. V. (2002b) Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 975 p.
- Resende, M. D. V. (2004) Métodos estatísticos ótimos na análise de experimentos de campo. Colombo: Embrapa Floresta, (Documentos, 100).
- Resende, M. D. V.; Dias, L. A. S. (2000) Aplicação da metodologia de modelos mistos (REML/BLUP) na estimação de parâmetros genéticos e predição de valores genéticos em espécies frutíferas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 22:44-52.

- Resende, M. D. V.; Fernandes, J. S. C. (1999) Procedimento BLUP individual para delineamentos experimentais aplicados ao melhoramento florestal. *Revista de Matemática e Estatística*, São Paulo, v.17, p.89-107.
- Resende, M. D.; Mora, A.L.; Higa, A.R.; Paludzyszyn Filho, E. (1998) Efeito do tamanho amostral na estimativa da herdabilidade em espécies perenes. *Floresta*, v.28, n.1/2, 1998.
- Rodríguez, R.E.S. (1998) Estimativa dos parâmetros genéticos e de resposta à seleção na população de arroz irrigado CNA1. Dissertação (Mestrado) Goiânia-GO, Universidade Federal de Goiás, UFG; 87p.
- Rumin, G.C.R. (2005) Análise da interação genótipo x ambiente assistida por marcadores moleculares em milho (*Zea mays* L.). Tese de Doutorado, Escola superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 212p.
- SAS Institute INC. (1992) Statistical Analyses System Release 6.12, (Software). Cary, 1992.
- Silva, F. F.; Pereira, M. G.; Campos, W. F.; Damasceno Júnior, P. C.; Pereira, T. N. S.; Souza Filho, G. A.; Ramos, H. C. C.; Viana, A. P.; Ferregueti, G. A. (2007) DNA marker-assisted sex conversion in elite papaya genotype (*Carica papaya* L.). *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 7:52-58.
- Silva, F. F.; Pereira, M. G.; Ramos, H. C. C.; Damasceno Júnior, P. C.; Pereira, T. N. S.; Gabriel, A. P. C.; Viana, A. P.; Ferregueti, G. A. (2008) Selection and estimation of the genetic gain in segregating generations of papaya (*Carica papaya* L.). *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 8: 1-8.
- 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.

- Storey, W. B. (1941) The botany and sex relations of the papaya. *Hawaii Agricultural Experimental Station Bulletin*, 87:5–22.
- Storey, W. B. (1953) Genetics of papaya. *Journal of Heredity*, 44:70–8. Urasaki, I. N.; Tokumoto, M.; Torora, K.; Ban, Y.; Kayano, T.; Tanaka, H.; Oku, H.; Chinen, I.; Terauchi, R. (2002). A male and hermaphrodite specific RAPD markers for papaya (*Carica papaya* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 104: 281 – 285.
- Storey, W.B. (1938) The primary flowers types of papaya and the primary fruit types that develop from them. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 35:83-85.
- Tóth, G., Gáspari, Z., Jurka, J. (2000) Microsatellites in different eukaryotic genomes:survey and analysis. *Genome Research* 10:967-981.
- Urasaki, I.N.; Tokumoto, M.; Torora, K.; Ban, Y.; Kayano, T.; Tanaka, H.; Oku, H.; Chinen, I.; Terauchi, R. (2002) A male and hermaphrodite specific RAPD markers for papaya (*Carica papaya* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 104 (2-3): 281 – 285.
- Van Droogenbroeck, B.; Breyne, P.; Gotghbeur, P.; Romeijn-Peeters, E.; Kyndt, T.; Gheysen, G. (2002). AFLP analysis of genetic relationships among papayaitis wild relatives (Caricaceae) from Ecuador. *Theoretical and Applied Genetics*, 105: 289-297.
- Van Droogenbroeck, D.; Kyndt, T.; Maertens, I. (2004) Phylogenetic analysis of the highland papayas (*Vasconcellea*) and allied genera (Caricaceae) using PCR-RFLP. *Theoretical and Applied Genetics*, 108: 1473-1486.
- Vencovsky, R. (1969) Genética quantitativa. In: Kerr, W.E. (ed) *Melhoramento e Genética*. São Paulo. 301p.
- Vieira, E. A; Carvalho, F. I. F.; Bertan, I.; Kopp, M. M.; Zimmer, P. D.; Benin, G.; Silva, J. A. G.; Hartwig, I.; Malone, G.; Oliveira, A. C. (2007) Association

between genetic distances in wheat (*Triticum aestivum* L.) as estimated by AFLP and morphological markers. *Genetic and Molecular Biology*. 30: 392-399.

Vitória, A. P.; Souza Filho, G. A.; Bressan-Smith, R.; Pinto, F. O. ; Paiva, L. B.; Guimarães, P. S.; Oliveira, M. P. A.; Pereira, M. G.; Daher, R. F. (2004) DNA fingerprint of *Carica papaya* L. genotypes by RAPD markers. *Journal of New Seeds*, 6: 1-10.

Yu, Q.; Hou, S.; Feltus, F. A.; Jones, M. R.; Murray, J. E.; Veatch, O.; Lemke, C.; Saw, J. H.; Moore, R. C.; Thimmapuram, J.; Liu, L.; Moore, P. H.; Alam, M.; Jiang, J.; Paterson, A. H.; Ming, R. (2008) Low X/Y divergence in four pairs of papaya sex-linked genes. *The Plant Journal* 53:124-132.

Zane, L.; Bargelloni, L.; Patarnello, T. (2002) Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology*, Oxford, 11:1-16.