

**RETROCRUZAMENTO EM MAMOEIRO: AVANÇO DE GERAÇÕES
E SELEÇÃO DE LINHAGENS VIA PROCEDIMENTOS CLÁSSICOS E
MOLECULARES**

HELAINÉ CHRISTINE CANCELA RAMOS

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

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
DEZEMBRO – 2010**

RETROCRUZAMENTO EM MAMOEIRO: AVANÇO DE GERAÇÕES
E SELEÇÃO DE LINHAGENS VIA PROCEDIMENTOS CLÁSSICOS E
MOLECULARES

HELAINÉ CHRISTINE CANCELA RAMOS

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
DEZEMBRO – 2010

RETROCRUZAMENTO EM MAMOEIRO: AVANÇO DE GERAÇÕES
E SELEÇÃO DE LINHAGENS VIA PROCEDIMENTOS CLÁSSICOS E
MOLECULARES

HELAINÉ CHRISTINE CANCELA RAMOS

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 15 de dezembro de 2010.

Comissão Examinadora:

Prof^ª. Telma Nair Santana Pereira (Ph.D., Plant Breeding) – UENF

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

Prof. Luiz Orlando de Oliveira (Ph.D. Plant Genetics and Breeding) - UFV

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

Aos meus pais, Nagla e Walson Filho, pelo apoio, amor e pelos ensinamentos que formaram os alicerces de minha história; aos meus irmãos, Liziane e Walson Neto por todo carinho e por compreender a minha ausência em muitos momentos de suas vidas,

Dedico esta conquista

AGRADECIMENTOS

A Deus, por permitir que eu chegasse até aqui.

À UENF, FAPERJ e Caliman Agrícola S/A, pelo suporte financeiro e pela infraestrutura para a realização deste trabalho.

Aos meus familiares, em especial à minha mãe Nagla e ao meu pai Walson Filho; aos meus irmãos Liziane e Walsinho por acreditarem e torcerem sempre pelo meu sucesso.

Ao meu namorado Guilherme, pelo carinho e pela companhia ao longo desta trajetória.

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

Aos professores do LMGV, em especial aos professores Alexandre Pio Viana e Telma Nair Santana Pereira, pelas valiosas contribuições.

Aos colegas do LMGV pela amizade e pela agradável convivência durante este período de doutoramento, em especial a Elba, Keila, Ana Paula, Patrícia, Roberto e Leandro.

À técnica do LMGV, Vitória Régia, pela colaboração nos trabalhos realizados no laboratório.

Ao secretário do LMGV, Daniel, pela atenção, dedicação e auxílio nos momentos burocráticos e amizade.

E a todos que deram a sua contribuição para que este trabalho fosse realizado, deixo aqui o meu agradecimento sincero.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Importância econômica e uso.....	4
2.2. Aspectos gerais da cultura.....	6
2.3. Melhoramento genético do mamoeiro.....	8
2.4. Métodos de condução de população segregante.....	10
2.5. Cultivares e híbridos.....	13
2.6. Desenvolvimento de linhagens.....	15
2.7. Metodologia dos modelos mistos no melhoramento de plantas.....	16
2.8. Marcadores moleculares no melhoramento.....	18
3. TRABALHOS.....	22
3.1. ANÁLISE MULTIVARIADA NA AVALIAÇÃO DA DISTÂNCIA GENÉTICA ENTRE POPULAÇÕES 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.....	26
3.1.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
3.1.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
3.2. SELEÇÃO COMBINADA EM POPULAÇÃO DE MAMOEIRO UTILIZANDO A METODOLOGIA DOS MODELOS MISTOS.....	56
3.2.1. RESUMO.....	56
3.2.2. ABSTRACT.....	57
3.2.3. INTRODUÇÃO.....	57
3.2.4. MATERIAL E MÉTODOS.....	59
3.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
3.2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
3.3. CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE TRÊS GERAÇÕES 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.....	86
3.3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	100
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	107
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	110

LISTA DE TABELAS

3.1. ANÁLISE MULTIVARIADA NA DETERMINAÇÃO DA DISTÂNCIA GENÉTICA ENTRE PROGÊNIES DE MAMOEIRO (<i>CARICA PAPAYA</i> L.) DERIVADAS DE RETROCRUZAMENTO.....	22
Tabela 1 - Materiais genéticos avaliados no presente estudo.....	27
Tabela 2 - Sequências dos vinte <i>primers</i> ISSR e dezenove <i>primers</i> RAPD utilizados no trabalho e respectivas temperaturas de anelamento.....	30
Tabela 3 - Teste de comparação de médias e resumo da análise de variância para as 15 características avaliadas em 32 progênies de mamão.....	34
Tabela 4 - Sequência de iniciadores ISSR e RAPD utilizados na análise de 32 progênies e respectivas temperaturas de anelamento (TM), total de alelos e número de alelos polimórficos.....	41
Tabela 5 - Correlação entre matrizes de distância genética estimada a partir da análise de características morfoagronômicas, marcadores moleculares (ISSR e RAPD) e pela análise conjunta dos dados quantitativos e moleculares, em 32 progênies de mamão.....	48
3.2. SELEÇÃO COMBINADA EM POPULAÇÃO DE MAMOEIRO (<i>C. PAPAYA</i> L.) UTILIZANDO A METODOLOGIA DOS MODELOS MISTOS.....	56

Tabela 1 - Estimativa de parâmetros genéticos estimados para as 16 características avaliadas via procedimento REML/BLUP, utilizando dados individuais.....	65
Tabela 2 - Coeficiente de coincidência entre cinco índices de seleção, além da seleção direta para PROD, empregadas para identificação das melhores famílias, considerando uma pressão de seleção de 30%.....	68
Tabela 3 - Ganhos genéticos e novas médias preditas em quatro características de grande importância no melhoramento do mamoeiro para as famílias selecionadas pelo índice IG2.....	70
Tabela 4 - Ganhos genéticos e novas médias preditas para quatro características de grande importância no melhoramento do mamoeiro, considerando os genótipos selecionados dentro das famílias superiores.....	71
Tabela 5 - Seleção direta para quatro características de importância agrônômica para o melhoramento do mamoeiro.....	73
3.3. CARACTERIZAÇÃO GENÉTICO-MOLECULAR DE POPULAÇÕES DE MAMOEIRO (<i>CARICA PAPAYA L.</i>) ORIUNDAS DE RETROCRUZAMENTO BASEADO EM LOCOS MICROSSATÉLITES.....	78
Tabela 1 - Características dos 20 pares de iniciadores microssatélites utilizados na análise dos 75 genótipos derivados de retrocruzamento e dos genótipos parentais.....	87
Tabela 2 - Genótipos derivados de três gerações de retrocruzamento e respectivos valores da heterozigose esperada (H_E), heterozigose observada (H_O) e coeficiente de endogamia (f).....	91

LISTA DE FIGURAS

3.1. ANÁLISE MULTIVARIADA NA DETERMINAÇÃO DA DISTÂNCIA GENÉTICA ENTRE PROGÊNIES DE MAMOEIRO (CARICA PAPAYA L.) DERIVADAS DE RETROCRUZAMENTO.....	22
Figura 1 - Dendograma obtido pelo método hierárquico Vizinho Mais Próximo baseado na análise de 32 famílias de mamão usando: A - distância de Manhattan para análise de 15 características quantitativas (Coeficiente de correlação cofenética= 0,6) e, B – complemento aritmético do índice de Jaccard para análise dos dados binários (Coeficiente de correlação cofenética= 0,56).....	40
Figura 2 - Dendograma obtido pelo método Vizinho Mais Próximo baseado na análise de 32 famílias de mamão usando a distância de Gower para análise conjunta dos dados contínuos e binários (Coeficiente de correlação cofenética= 0,72).....	45
Figura 3 - Análise das Cordenadas Principais, considerando 28 progênies de mamão e quatro testemunhas, utilizando dados morfoagronômicos (A), moleculares (B) e a análise conjunta dos dados (C).....	46
3.3. CARACTERIZAÇÃO GENÉTICO-MOLECULAR DE POPULAÇÕES DE MAMOEIRO (CARICA PAPAYA L.) ORIUNDAS DE RETROCRUZAMENTO BASEADO EM LOCOS MICROSSATÉLITES.....	78

Figura 1 - Procedimento de melhoramento utilizado para obter os genótipos avaliados nesse estudo.....	83
Figura 2 - Diagrama representando os 12 grupos de ligação descritos para mamão, mostrando os 20 marcadores microssatélites utilizados neste trabalho. A posição dos marcadores no mapa e sua relativa distância está de acordo com Chen et al., (2007).....	89
Figura 3 - Proporção genômica do parental recorrente (PR) dos genótipos pertencentes às gerações RC ₁ S ₄ (1 a 25), RC ₂ S ₃ (26 a 50) e RC ₃ S ₂ (51 a 75)...	94
Figura 4 - Análise da estruturação genética dos 75 genótipos de mamão e dos dois genótipos parentais [Cariflora (1) e SS783 (2)]. Os valores entre parênteses representam a geração de retrocruzamento a qual os genótipos pertencem, sendo 3 genótipos da primeira geração (RC ₁), 4 da segunda geração (RC ₂) e 5 da terceira geração de retrocruzamento (RC ₃).....	96
Figura 5 - Dendograma de dissimilaridade obtidos pelo método Vizinho Mais Próximo, ilustrando a relação genética entre 75 genótipos pertencentes a três gerações de retrocruzamento (RC ₁ – azul; RC ₂ – verde; RC ₃ – vermelho), além dos genótipos parentais Cariflora e SS783, (Coeficiente de correlação cofenética = 0,91).....	98
Figura 6 - Análise das Cordenadas Principais, considerando 75 genótipos de mamão derivados de retrocruzamento, o parental recorrente (Cariflora) e o parental doador, com base na matriz de distância obtida pela análise dos marcadores microssatélites.....	99

RESUMO

RAMOS, Helaine Christine Cancela, D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Dezembro de 2010, Retrocruzamento em mamoeiro: Avanço de gerações e seleção de linhagens via procedimentos clássicos e moleculares. Orientador: Messias Gonzaga Pereira. Conselheiros: Alexandre Pio Viana e Telma Nair Santana Pereira.

A notável importância econômica da espécie *Carica papaya* L., frente ao baixo número de variedades comerciais, bem como a crescente pressão do mercado por produtos de maior qualidade, revela uma séria necessidade de desenvolvimento de novos cultivares. Cultivares estas que possuam qualidade mercadológica que atendam as demandas atuais, que possam competir no mercado com cultivares já existentes e que contribuam para a conquista de novos mercados. A condução de populações segregantes somado à aplicação de métodos biométricos, moleculares e estatísticos adequados desponta como uma importante estratégia para se alcançar tais objetivos. Em prosseguimento ao projeto principal já em desenvolvimento pela UENF que visa a conversão sexual do genótipo Cariflora, a presente trabalho teve como objetivo conduzir progênies segregantes derivadas de três gerações de retrocruzamento com o auxílio de procedimento clássicos e moleculares, com o intuito de identificar segregantes superiores para geração de linhagens endogâmicas. Três trabalhos oriundos deste projeto de pesquisa serão aqui apresentados. O primeiro contempla a avaliação da distância genética entre progênies utilizando-se caracteres quantitativos, moleculares e a análise conjunta para acessar tais informações.

Quinze caracteres morfoagronômicos e 193 marcadores do tipo dominante obtidos da amplificação de 20 iniciadores ISSR e 19 RAPD foram analisados. A análise conjunta dos dados (moleculares e quantitativos) apresentou maior coerência no agrupamento das progênies do que as análises individuais, sendo então utilizada para realizar inferências sobre a distância genética dos materiais avaliados. No segundo trabalho, a metodologia dos modelos mistos foi empregada com o intuito de acessar as informações genéticas dentro de progênies, analisando os ganhos e as novas médias preditas para efetuar a seleção dos genótipos superiores dentro das melhores progênies. O procedimento REML/BLUP foi aplicado e os valores genéticos obtidos, bem como os valores fenotípicos, foram multiplicados por pesos agronômicos para a construção de índices de seleção. A comparação de tais índices evidenciou que o IG2, que considera o valor genético padronizado, apresentou maior coerência entre as progênies e indivíduos selecionados, considerando o princípio da seleção simultânea, provendo a indicação das dez melhores famílias e, dentro destas, 23 genótipos superiores. Somado a estes genótipos, foram indicados quatro genótipos via seleção direta para a variável produção, teor de sólidos solúveis, firmeza da polpa e do fruto. No último trabalho foi realizada a caracterização genético-molecular via marcadores microssatélites, utilizando-se genótipos oriundos das três gerações de retrocruzamento (RC_1S_4 , RC_2S_3 e RC_3S_2), no intuito de conhecer a estrutura genética dos materiais genéticos disponíveis neste programa de melhoramento. Foram analisados 20 locos microssatélites em 77 genótipos, sendo 25 provenientes de cada geração de retrocruzamento, além dos genótipos parentais (Cariflora e SS783). Uma boa amostragem genômica foi obtida pela análise dos 20 locos, estando estes distribuídos em 11 dos 12 grupos de ligação estabelecidos para o genoma do mamão. Apesar das gerações avançadas de autofecundação, as gerações RC1 e RC3 dispõem de moderada variabilidade, possibilitando a obtenção de ganho genético com a seleção de genótipos convertidos para o sexo e agronomicamente superiores. No entanto, tanto o nível de endogamia, quanto a proporção genômica do parental recorrente não seguiram exatamente as proporções esperadas, evidenciando a importância da análise molecular para acessar os respectivos valores nos diferentes genótipos.

ABSTRACT

RAMOS, Helaine Christine Cancela, D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, December 2010, Backcross in papaya: Advance of generations and inbred lines selection via classical and molecular procedures. Advisor: Messias Gonzaga Pereira. Committee Members: Alexandre Pio Viana and Telma Nair Santana Pereira.

The remarkable economic importance of the species *Carica papaya* L., compared to the low number of commercial varieties and by growing market pressure for higher quality products, reveals a serious need for developing new cultivars. Cultivars that have marketable quality that meet the current demands that can compete the market with existing cultivars and that contribute to the attraction of new markets. Deriving segregating population added with the introduction of biometric, molecular and adequate statistical tools is emerging as an important strategy for achieving those goals. Continuing with the main project that aims at conversion of Cariflora sexual genotype, this research aims to lead the segregating progenies derived from three generations of backcrossing with the aid of classical and molecular procedure, in order to identify segregating superior inbred lines. Three papers developed from this research will be presented here. The first includes the evaluation of genetic distance among progenies using quantitative traits, molecular and joint analysis for access such information. Fifteen morphological characters and 193 markers obtained from the amplification of 20 ISSR and 19 RAPD primers were analyzed. The combined analysis of data (molecular and quantitative) showed greater consistency in the grouping of

offspring than the individual analysis, and then used to make inferences about the genetic distance of the tested materials. In the second work, the mixed model methodology was also employed in order to access the genetic information within families, analyzing the gain and new predicted mean to effect the selection of superior genotypes in the best progeny. The REML / BLUP procedure was applied and the breeding values and phenotypic values were multiplied by agronomic weights for the construction of indexes (IG1, IG2, IF1, IF2, MI and ISR). The comparison of these indexes showed that the IG2, based on the standardized genetic values, presented greater consistency among the families and individuals selected, considering the principle of simultaneous selection, providing an indication of the ten best families, and within these, the 23 genotypes. Added to these genotypes, four others were indicated by direct selection for production, soluble solids, pulp and fruit firmness. In the last study was conducted a genetic-molecular characterization via microsatellite markers, using genotypes from the three generations of backcrossing (BC_1S_4 , BC_2S_3 and BC_3S_2), in order to understand the genetic structure of the genetic material available from this breeding program. We analyzed 20 microsatellite loci in 77 genotypes, 25 from each generation of backcrossing besides the parental genotypes (Cariflora and SS783). The genomic representation was obtained by the analysis of 20 loci, whereas they were distributed into 11 of the 12 linkage groups established for the papaya genome. Despite the advanced generations of self-fertilization, generations RC1 and RC3 have moderate variability, allowing the determination of genetic gain with selection of genotypes converted to sex and agronomically superior. However, both the level of homozygosity and inbreeding, as well the proportion of recurrent parent genome did not follow exactly the expected ratios, indicating the importance of molecular analysis to access their values in the different genotypes.

1. 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. 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, 2010), alcançando, em 2007, uma produção de 1 milhão e 812 mil toneladas, representando 27% da produção mundial (IBGE, 2010).

Entretanto, apesar dessa 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.

Além de contemplar tais atributos morfoagronômicos, os novos materiais genéticos precisam ser estáveis, evitando variação no campo. Para tanto, evidencia-se a necessidade de desenvolver linhas altamente endogâmicas para que possam ser lançadas como variedade ou utilizadas em programas de hibridação como genitoras de híbridos. Esta estratégia, aplicada ao desenvolvimento de novas cultivares, só é possível devido a estrutura reprodutiva do mamoeiro, que permite a autofecundação, além da ausência da depressão por endogamia. De maneira geral, a obtenção de linhagens a partir de procedimentos clássicos baseia-se na indução de endogamia em populações segregantes através do processo de autofecundação, podendo esta estratégia perdurar de cinco a seis gerações, dependendo da estrutura genética da população (Oliveira et al., 2010).

Tendo em vista que a obtenção de linhas endogâmicas, essenciais para o desenvolvimento de híbridos estáveis, está vinculada à possibilidade de realizar autofecundação, ou seja, à presença da flor perfeita, o hermafroditismo, que também está relacionado ao desenvolvimento de frutos com padrão comercial, passa a ser um caráter de grande relevância para os programas de melhoramento. Embora existam inúmeras teorias que tentam explicar a determinação dos tipos sexuais em mamão (Ming et al., 2007), pesquisas recentes na área molecular têm demonstrado que este caráter é determinado por um par de cromossomos sexuais do tipo X/Y (Liu et al., 2004), sendo controlado por uma pequena região macho-específica localizada no cromossomo Y, o qual está diretamente ligado ao desenvolvimento de plantas masculinas e hermafroditas (Ma et al., 2003; Liu et al., 2004; Yu et al., 2007; Yu et al., 2008).

Diante da perspectiva de ampliar a base genética da cultura, tais informações podem contribuir significativamente, dado a possibilidade de transferir a região que determina o hermafroditismo para materiais dióicos altamente promissores, aumentando a disponibilidade de materiais genéticos a serem incluídos em programas de hibridação. Nesse contexto, o grupo de pesquisa da UENF vem somando mais uma contribuição para o progresso genético da cultura, através da condução de pesquisa que prevê a conversão sexual de um genótipo dióico (Cariflora) para ginóico-andromonóico via retrocruzamento (Silva et al., 2007; Ramos et al., 2010), tendo em vista que tal material genético apresentou bom desempenho (CEC e CGC) em cruzamentos

realizados em pesquisas anteriores (Marin et al., 2006). O método de retrocruzamento, originalmente desenvolvido para a transferência de um ou mais genes, apesar de ser um método conservador, ou seja, não gera novas combinações gênicas ao longo do processo, pode originar uma população inicial com considerável distância genética, ou seja, permite o desenvolvimento de progênes segregantes promissoras (Lorencetti et al., 2007), 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 semiperene 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 microsatélites se destacam pelo seu alto poder informativo (Oliveira et al., 2006) e ampla distribuição pelo genoma (Rallo et al., 2000), permitindo uma boa amostragem em estudos genéticos. Por outro lado, embora dominantes, os marcadores RAPD e ISSR provê convencional e rápida avaliação das diferenças na composição genética de indivíduos relacionados, contemplando regiões genômicas com histórias evolutivas substancialmente distintas, provendo diferentes informações (Saxena et al., 2005).

Frente ao exposto, na presente pesquisa, teve-se por objetivo avançar gerações de autofecundação em progênes segregantes derivadas de três gerações de retrocruzamento, com o intuito de obter linhas endogâmicas com diferentes proporções genômicas do genitor recorrente, além de linhagens do genótipo Cariflora convertido para o sexo. Os marcadores moleculares SSR, ISSR e RAPD foram utilizados para gerar informações genéticas de progênes e indivíduos oriundos deste programa de melhoramento. Além dos marcadores moleculares, o algoritmo Gower e a metodologia dos modelos mistos também foram aplicados para auxiliar na seleção de genótipos divergentes e agronomicamente superiores destinados a compor a geração seguinte.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos econômicos e uso comercial

O agronegócio brasileiro é considerado uma atividade próspera, segura e rentável devido à sua modernidade, eficiência e competitividade. Nesse cenário, a fruticultura tem tido grande destaque, apresentando-se de forma bastante diversificada, fazendo do país um dos maiores centros mundiais dessa atividade (Brasil, 2010). O Brasil é o terceiro pólo mundial da fruticultura, ficando atrás apenas da China e da Índia, alcançando, em 2007, uma produção de cerca de 43 milhões de toneladas. Nesse cenário, o mamão tem contribuído com, aproximadamente, 5% desse montante, ocupando a sexta posição entre as frutas mais produzidas no país (IBGE, 2010; IBRAF, 2010).

O mamão está no grupo das fruteiras tropicais mais cultivadas e consumidas, desenvolvendo-se bem em locais com temperatura média anual em torno de 25°C, com variação entre 21° e 33°C, precipitação pluviométrica de 1.500 mm anuais e umidade relativa do ar de 60 a 85% (Oliveira et al., 1994). A produção de frutos pela espécie *Carica papaya* L. confere grande importância econômica para a família *Caricaceae*, se posicionando como a principal espécie dentro desta.

Segundo dados da FAOSTAT (2009), nos últimos vinte anos (1988 a 2008), a posição de maior produtor mundial de mamão foi alternada entre Brasil e Índia, tendo o Brasil liderado esse *ranking* durante os anos de 1988, 1989, 1990

e 2003. Em 2008, embora tenha havido um acréscimo de 4,3% na produção nacional de mamão em relação a 2007, a participação do Brasil para a produção mundial reduziu para 18,7% (FAOSTAT, 2009). No âmbito nacional, as áreas de cultivo mais relevantes localizam-se nos Estados do Espírito Santo e Bahia, abrangendo 86% da produção no país, com importante contribuição do Rio Grande do Norte e Ceará para a produção total.

No *ranking* dos países exportadores, o Brasil ocupa a terceira posição, precedido por México e Belize. Os dados da exportação de mamão no Brasil mostraram redução de 7,7% em 2008 em relação a 2007, passando de 32.267 para 29.968 toneladas. Apesar do *déficit* na quantidade exportada, houve um aumento de 12,2% no valor das exportações no período 2008/2007, gerando uma receita de US\$ 38,6 milhões (IBRAF, 2010). Nesse cenário, destacam-se como principais importadores a União Européia, Estados Unidos e Canadá (FAOSTAT, 2009). Entretanto, apesar dos números expressivos, a maior parte da produção doméstica é destinada ao mercado interno, prioritariamente na forma *in natura*, sendo que apenas 2,4% da produção nacional são destinados ao mercado externo (Agriannual, 2008).

A cultura do mamoeiro gerou cerca de R\$ 1 bilhão em 2008 (IBGE, 2010), com tendência mundial de crescimento, sobretudo, para o exterior com a abertura de novos mercados. Porém, a restrita variabilidade genética, observada nos plantios comerciais do mamoeiro, em praticamente todas as regiões produtoras, tem limitado a expansão da cultura, além de gerar grande vulnerabilidade ao ataque de pragas e doenças. Atualmente, a área plantada no Brasil é constituída basicamente por três principais variedades, sendo elas: Sunrise Solo, Golden e o híbrido Tainung nº1 (importado de Taiwan).

Os mamoeiros, independentes do grupo a que pertencem, são plantas com início de frutificação entre o oitavo e nono mês a partir do semeio e com um ciclo de produção com aproveitamento comercial, também relativamente curto, de aproximadamente 16 meses, totalizando um ciclo total de 24 meses de vida da lavoura. Resulta que a cada dois anos as lavouras devem ser renovadas, tornando grande a demanda por sementes ou mudas para a manutenção de plantios com produção de qualidade (Ferregueti, 2008). Assim, com a necessidade de renovação periódica dos seus pomares, sua produção absorve

mão de obra regularmente, gerando muitos empregos, tornando-se uma cultura de grande importância comercial e social (Oliveira *et al.*, 1994).

Além da produção e consumo da fruta *in natura*, diversas formas de processamento diversificam sua utilização, como geléias, doces, sucos etc. Ao analisar em nível mundial, constata-se que o uso do mamão na alimentação vai além da forma natural, variando desde bolos até cozidos como vegetal, variando conforme o país (Silva *et al.*, 2007). Adicionalmente, estudos têm demonstrado o potencial de estratos do fruto e de sementes de mamão como bactericida (Emeruwa 1982), contraceptivo masculino (Chinoy *et al.*, 1994) e fonte de energia devido à alta produção de etanol (Akin-Osanaiye *et al.*, 2005).

Outra forma pelo qual o mamoeiro tem sido explorado em muitos países consiste na extração da papaína, uma importante enzima proteolítica de alto valor comercial e amplamente aplicada em diversos seguimentos industriais. No âmbito da indústria farmacêutica, os compostos extraídos da papaína têm tido comprovada atividade antibacteriana e antifúngica (Giordani and Siepai, 1991), antimicrobiana (Emeruwa, 1982), anti-helmínticos e antiamebiana (Okeniyi *et al.*, 2007).

2.2. Aspectos gerais da cultura

Há relatos de que a história do mamão tenha sido primeiramente documentada entre os anos de 1513 a 1525, sendo descrito a descoberta do mamoeiro por espanhóis, os quais coletaram sementes na costa do Panamá e levaram para a ilha de São Domingos e outras ilhas da Índia ocidental. Posteriormente, as sementes teriam sido levadas para as Filipinas e Malásia, chegando à Índia em 1598. Já no início do século XVIII, encontrava-se amplamente distribuído por vários países tropicais e subtropicais entre 32° de latitude norte e sul, com expansão no Brasil a partir de 1973, com a introdução de variedades do grupo solo (Salomão *et al.*, 2007).

A família *Caricaceae* tem como principal centro de origem o continente americano, com maior distribuição na América do Sul, onde são encontradas espécies dos gêneros *Vasconcellea*, *Carica* e *Jacaratia*. 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, o que o caracteriza como uma planta tipicamente tropical. A sua distribuição estende-se entre 32 graus de latitude norte e sul, sendo que as áreas comerciais são menos extensivas (Badillo, 1993).

O mamoeiro cultivado comercialmente (*C. papaya*) pertence à família Caricaceae, que por sua vez possui seis gêneros e 35 espécies (Badillo, 2001; Van Droogenbroeck et al., 2002). O gênero *Carica* (uma espécie), *Horovitzia* (uma espécie), *Jacaratia* (sete 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).

A espécie *Carica papaya*, bem como as espécies *Jacaratia spinosa*, *Vasconcellea monóica* e *V. cundinamarcensis*, são diplóide com $2n=2x=18$, ou seja, número básico de cromossomos haplóides ou genoma $n=9$ (Damasceno Júnior et al., 2009). Entretanto, a obtenção de híbridos entre os dois gêneros tem sido limitada por instabilidade pós-zigóticas, como aborto de embriões e infertilidade dos híbridos (Manshardt e Wenslaff, 1989). Com o advento da técnica de resgate de embrião, alguns cruzamentos intergenéricos têm sido bem sucedidos, conferindo certo sucesso ao processo de hibridação (Magdalita et al., 1996).

A espécie *C. papaya* possui variedades dióicas (plantas femininas e masculinas) e ginóica-andromonóica (plantas femininas e hermafroditas). Em muitas regiões do mundo dá-se preferência a cultivares hermafroditas por sua maior produtividade, dado que todas as plantas produzirão frutos. A segregação em relação ao sexo presente em populações hermafroditas leva o agricultor a plantar de três a cinco mudas por cova para garantir que não mais do que 3% sejam femininas. Considerando que o sexo das plantas só é possível de ser identificado entre três e quatro meses após o transplante, este processo apresenta-se como ineficiente quanto ao tempo, mão de obra, nutrientes, água, além de atrasar a produção devido à competição entre as plantas (Ming et al., 2007).

Assim, a identificação do sexo em fase precoce e a compreensão dos mecanismos que controlam a expressão dessa característica tem sido objeto de estudo para diversos grupos de pesquisas ao redor do mundo. Várias teorias foram propostas ao longo dos anos (Hofmeyr, 1939; Storey, 1938, 1941). No

entanto, pesquisas recentes têm demonstrado que a determinação do sexo na espécie *C. papaya* 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 que as plantas masculinas e hermafroditas são heterogaméticas, apresentando as combinações cromossômicas XY e XY^h, respectivamente (Liu et al., 2004). É provável que dois genes estejam envolvidos na determinação do sexo em mamão, 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 sete genes na região que controla o sexo, porém, os mesmos 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).

2.3. Melhoramento genético do mamoeiro

De acordo com 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 Jiménez (1967) e por Hofmeyr (1967). No Brasil há relatos de que os primeiros trabalhos desenvolvidos na área de melhoramento do mamoeiro foram conduzidos pelo Instituto Agrônomo de Minas Gerais (Giacometti e Mundim, 1953), fato evidenciado pela supremacia que a região sudeste detinha em relação à cultura do mamoeiro desde o início da década de 50 (Alves, 2003).

Atualmente, no Brasil, as pesquisas de maior expressão na área de melhoramento genético do mamoeiro têm sido desenvolvidas basicamente por três principais instituições, a citar, a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), no Estado do Rio de Janeiro, pelo Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural, no Estado do Espírito Santo, e pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Mandioca e Fruticultura), no

Estado da Bahia. De maneira geral, os trabalhos desenvolvidos por estas instituições têm como objetivo melhorar tanto características da planta quanto do fruto. Assim, busca-se o desenvolvimento de variedades resistentes ou tolerantes a pragas, doenças e variações ambientais, com alta qualidade da polpa, alto teor de sólidos solúveis, redução da ocorrência de deformação de frutos (pentandria e carpeloidia) e de esterilidade feminina, alta produtividade, tamanho uniforme do fruto com casca lisa e sem mancha, frutificação precoce, longevidade pós-colheita, sendo os mesmos competitivos e adaptados às condições ambientais do país.

O programa de melhoramento do mamoeiro da UENF tem obtido bons resultados com destaque para o lançamento e recomendação do primeiro híbrido nacional de mamão (UENF/Caliman 01), no qual a comercialização tanto do fruto quanto das sementes tem ultrapassado as fronteiras nacionais, demonstrando boa aceitação pelo mercado internacional. Além deste, outros oito híbridos já foram desenvolvidos e registrados junto ao ministério da agricultura, além de outras combinações híbridas identificadas como promissoras e, possivelmente, serão recomendadas em curto prazo. Esses avanços foram alcançados devido à implantação de programas de melhoramento genético apoiados em procedimentos clássicos como, por exemplo, retrocruzamentos associado 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).

A estratégia de melhoramento empregado pelo Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural e empresas particulares localizadas em áreas de produção do norte do Estado do Espírito Santo consiste na realização da seleção massal em mamoeiros ginóico-andromonóicos dos grupos Solo e Formosa. Adicionalmente, também tem sido realizada a seleção plantas superiores para posterior avaliação em testes de progênies, sendo as progênies avaliadas em

experimentos com repetições em vários locais no Estado do Espírito Santo, permitindo uma avaliação mais precisa das plantas selecionadas e redução do efeito da interação genótipo x ambiente no resultado da seleção (Bueno et al., 2001).

Já na EMBRAPA Mandioca e Fruticultura Tropical, os programas de melhoramento genético desenvolvidos envolvem a seleção e autofecundação de plantas com características superiores a partir de populações F₁ do híbrido Tainung 01 e, seleção e autofecundação de plantas a partir da introdução de acessos segregantes para promover a fixação, culminando na obtenção de linhagens puras que, após avaliação e caracterização, passam a integrar o banco de linhas puras (Dantas et al., 2002). A instituição também direciona esforços para a caracterização molecular de genótipos do Banco Ativo de Germoplasma, estudos de adaptabilidade a diferentes ecossistemas, indentificação de fontes de resistência, avaliação de genótipos geneticamente modificados, entre outras práticas (Cruz et al., 2007). Esta instituição também detém o maior Banco de Germoplasma de mamão (BAG-mamão) do Brasil, o qual conta, atualmente, com mais de 200 acessos, incluindo a espécie *C. papaya* L., *V. quercifolia*, *J. spinosa*, e *V. cauliflora*.

2.4. Métodos de condução de população segregante

Os métodos de melhoramento de plantas podem contribuir substancialmente para aumentar a produtividade agrícola, o qual pode ser obtido não somente com o desenvolvimento de variedades altamente produtivas, como também pelo desenvolvimento de materiais genéticos que contribuam para estabilizar a produção através da resistência a doenças e pragas, seca, calor, frio e vento (Allard, 1971). Adicionalmente, o melhoramento tem dado ênfase não somente a caracteres agronômicos e hortícolas, mas também a qualidade do produto produzido, direcionando cada vez mais atenção às necessidades e preferências da população.

A obtenção de variedades com caracteres desejáveis está associada à identificação e seleção desses tipos. No entanto, a possibilidade de sucesso com a seleção de plantas está associada à disponibilidade de variabilidade genética na população. Quando não há variação na população disponível é preciso obter

populações segregantes através de programas de hibridação, tornando-se de grande relevância, nesse processo, a seleção dos genótipos parentais.

Sabendo-se que as diferenças a serem detectadas são cada vez menores, evidencia-se a necessidade de conduzir os programas de melhoramento com grande eficiência, a qual pode ser afetada pela escolha do método para condução de populações segregantes, especialmente, em espécies autógamas (Fehr, 1987). As estratégias de melhoramento por hibridação diferem entre si, principalmente, pela metodologia de avanço de gerações para fixação de genótipos homozigotos no processo de desenvolvimento de linhas puras superiores. A finalidade dos métodos de condução de populações segregantes é obter indivíduos homozigotos através de sucessivas autofecundações (Bespalkok et al., 1999).

O método de melhoramento da população ou método Bulk é o método mais simples de condução de gerações segregantes. Nesse método, após a hibridação artificial entre linhagens parentais selecionadas, as plantas são colhidas todas juntas das gerações F_1 até F_5 , em *bulk*, retirando-se uma amostra de sementes para dar origem à próxima geração. Após 5 a 6 gerações de autofecundação, obtém-se uma população na qual os indivíduos serão praticamente homozigotos, mas com variabilidade genética. Neste caso, ocorre uma grande ação da seleção natural durante a condução das populações segregantes, existindo como desvantagem a necessidade da condução de tais populações ser feita em condições de plantio, não sendo possível a utilização de casa de vegetação, além da possibilidade de algumas plantas não serem representadas na geração seguinte (Borém, 2005).

Outro método utilizado na condução de populações segregantes é o genealógico ou *pedigree*. Tal método proporciona um controle parental detalhado, e consiste na seleção de plantas individuais, ou seja, na geração F_3 , cada planta selecionada em F_2 será plantada em linha e realiza-se a seleção entre linhas e dentro de cada linha. Estes procedimentos são repetidos até a geração F_5 ou F_6 , quando começa a avaliação das linhagens. Esse método tem como vantagem o alto controle das linhas desenvolvidas possibilitada pela anotação dos dados. Por outro lado, requer maior tempo para execução devido à necessidade de conduzir as populações em épocas adequadas ao desenvolvimento da cultura durante as etapas de seleção (Bespalkok et al., 1999).

O método SSD (*Single Seed Descent* ou Descendente de uma Única Semente) também envolve a condução de população segregante e está entre os métodos mais utilizados pelos melhoristas de espécies autógamas. Esse método consiste em técnica de avanço de gerações, após cruzamento, coletando-se uma semente por planta, sem efetuar seleção nas gerações iniciais de autofecundações, para aumento de homozigidade nos descendentes e obtenção de linhagens. As populações segregantes podem ser plantadas fora da época normal de plantio e em qualquer ambiente, sendo pouco influenciada pela seleção natural. Assim, há a possibilidade de reduzir o tempo necessário para a obtenção das linhagens puras e, conseqüentemente, para a obtenção de uma nova variedade (Allard, 1971).

Além dos métodos citados acima, as populações segregantes também podem ser conduzidas por métodos menos utilizados, os quais consistem em modificações dos métodos descritos acima, a saber, o método SPD (Single Pood Descent) descendente de uma única vagem, uma modificação de método SSD; o SHD (Single Hill Descent) ou descendente de uma única cova está entre as modificações do método genealógico.

Em estudo realizado por Raposo et al. (2000), cinco métodos de condução de população segregante foram comparados, a saber, os métodos genealógico, populacional ou *bulk*, descendentes de uma única semente ou *single seed descent* (SSD), *bulk* dentro de F_3 e *bulk* dentro de F_2 , no intuito de comparar a sua eficiência na cultura do feijoeiro. Os resultados mostraram que não houve diferenças marcantes entre os métodos em relação à obtenção de famílias superiores. No entanto, considerando a facilidade e flexibilidade de condução das populações, os métodos *bulk* e SSD mostraram-se mais vantajosos para o melhorista.

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.

2.5. Cultivares e híbridos

O limitado número de variedades e híbridos de mamão disponíveis aos produtores para compor os plantios comerciais no Brasil é uma realidade enfrentada há algum tempo. Ferreira e Giacometti (1988) ressaltam que o cultivo do mamão no Brasil pode ser dividido em duas fases, a saber, antes e depois da introdução de cultivares do grupo 'Solo'. Segundo Medina (1980), antes da introdução do grupo 'Solo' algumas variedades brasileiras eram cultivadas e comercializadas, consistindo em tipos não bem definidos denominados Caiano, Melão, Jasmim, Monte Alto, entre outros. Outros exemplos de variedades são a Nóbrega e Cedro, obtidas pela Estação de Citricultura de Cedro-PE, produziam frutos de 4 a 10 kg, além de variedades originárias de Goiás (denominada raça hermafrodita 'Goiano') e Uberlândia (raça dióica 'Lemp'). Atualmente, o Brasil tem variedades altamente melhoradas, entretanto, esse número ainda é pequeno, sendo os plantios comerciais no país compostos, basicamente, por cultivares endogâmicas do grupo 'Solo' (ex.: Sunrise Solo, Golden) ou pelos híbridos Tainung 01 e UENF/Caliman 01. Esta baixa disponibilidade de cultivares gera vulnerabilidade para a cultura e limita a sua expansão.

Esse cenário começou a mudar em 2001 com o desenvolvimento de nove híbridos, os primeiros híbridos nacionais de mamão, desenvolvidos pela UENF, em parceria com a empresa CALIMAN Agrícola S/A (maior exportadora de mamão do país), e registrados junto ao Ministério da Agricultura. O primeiro deles 'UENF/CALIMAN01', nome comercial 'Calimosa', já foi recomendado aos agricultores e vêm sendo cultivado nas diferentes regiões produtoras do Brasil, principalmente nos Estados do Rio Grande do Norte, Bahia e Espírito Santo. Este híbrido foi obtido a partir do cruzamento entre um progenitor do grupo Formosa e um progenitor do grupo Solo, apresentando características fenotípicas peculiares do grupo Formosa, com frutos alongados nas plantas hermafroditas e peso médio de 900 a 1.100 g. Além disso, apresenta polpa firme, vermelha e com alto teor de sólidos solúveis e de sabor e aroma bastante agradáveis (Pereira, 2003).

Outro híbrido bastante cultivado no Brasil é o Tainung 01, altamente produtivo, desenvolvido pela estação Experimental de Fengshan, em Taiwan, na China, o qual resultou do cruzamento de uma seleção de mamão da Costa Rica, de polpa vermelha, com Sunrise Solo. Este híbrido apresenta grande aceitação no mercado brasileiro e também está sendo iniciada a sua exportação para a Europa. O fruto da flor hermafrodita é alongado, com peso médio de 1.400 a 1.600 g. Apresenta casca de coloração verde-clara e polpa laranja-avermelhada, de ótimo sabor; boa resistência ao transporte e pouca ao frio, atingindo em média 130 t/ha/ano (Oliveira et al., 1994; Marin et al., 2006; Salomão et al., 2007).

Os primeiros trabalhos para a obtenção de híbridos de mamão no Brasil datam de 1983, desenvolvidos por Sampaio, em Conceição do Almeida – Ba, dos quais resultaram na obtenção dos híbridos Sunrise Solo x A-G e K-77 x Tailândia, com boa produção e resistência à *Phytophthora parasítica* (Dantas et al., 2002). No entanto, não há relatos de que tais híbridos sejam cultivados para fins comerciais em regiões produtoras brasileira.

Atualmente, em quase a totalidade das lavouras comerciais do mamoeiro no Brasil é implantada pelo genótipo 'Golden', uma mutação do 'Improved Sunrise Solo Line 72/12'. O 'Golden' é proveniente de seleção massal realizada nos campos de produção de 'Sunrise Solo', na empresa Caliman Agrícola S/A, no Estado do Espírito Santo. Possui frutos piriformes, com polpa vermelho-alaranjada e peso médio em torno de 450 g (Dantas et al., 2002), com produtividade média em torno de 60 t /ha/ano (Costa e Pacova, 2003).

Outra cultivar encontrada em plantios comerciais no Brasil é a linhagem Improved Sunrise Solo Line 72/12, procedente de Havaí, EUA, introduzido em 1982 e selecionado em 1986 para as condições de cultivo do Estado do Espírito Santo, nas Fazendas Experimentais de Linhares e Viana, da EMCAPA, atual INCAPER. Produz, em média, 80 t/ha/ano, com frutos pesando, em média, 405 g, de polpa vermelho-alaranjada, de boa qualidade e bastante consistente, casca lisa e firme, formato piriforme. Apresenta maior resistência ao armazenamento do que o Sunrise Solo, porém, é menos produtivo (Salomão et al., 2007).

A mais nova variedade de mamão disponível aos agricultores, a linhagem Rubi Incaper 511, foi desenvolvida pelo Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural. Os frutos produzidos por esta cultivar apresenta peso médio de 1.500g, com boa espessura da polpa, cor vermelho-alaranjada, casca lisa e sem

mancha, sabor suave e produtividade em torno de 170 toneladas por hectare. O padrão do fruto tipo Formosa garante uma nova possibilidade na produção de frutos grandes de mamão, além de gerar economia, já que as sementes podem ser aproveitadas para compor o próximo plantio. Até então, a única cultivar com este padrão de fruto era o híbrido Tainung 01, o qual requer uma constante aquisição de sementes, pois a reutilização das sementes causa grande variação na lavoura (INCAPER, 2010).

2.6. Desenvolvimento de linhagens

De acordo com Falconer (1987), cada variedade de planta que realiza a autofecundação natural é uma linha altamente endogâmica e a qualquer variação genética que aparece dentro da linha é em virtude da mutação. Dessa forma, o melhoramento genético pode ser feito somente pela escolha das melhores variedades existentes ou por cruzamento de diferentes variedades.

A teoria das linhas puras foi primeiramente mencionada pelo botânico dinamarquês W. L. Johannsen, em 1903, que a partir dos seus trabalhos experimentais com feijão definiu o termo linha pura como toda descendência, por autofecundação, de um único indivíduo homocigoto. As plantas descendentes serão idênticas geneticamente à planta original, podendo apresentar diferenças fenotípicas entre as plantas em função de efeitos ambientais que interfiram em seu metabolismo ou expressão gênica (Bespalkok et al., 1999).

As cultivares de plantas autógamas normalmente são do tipo linha pura. Estas possuem a vantagem de apresentar uniformidade entre os genótipos. Por outro lado, essa uniformidade pode levar a uma maior vulnerabilidade ao ataque de doenças, por exemplo.

A obtenção de linhas puras reunindo alelos favoráveis para um determinado caráter de interesse é um dos principais objetivos do melhoramento por hibridação em espécies autógamas. Os híbridos resultantes podem ser conduzidos por autofecundações até atingir homocigotidade, utilizando-se alguma técnica de avanço de gerações e, finalmente, efetuar seleção de linhagens superiores. De maneira geral, os passos necessários para o desenvolvimento de linhagens puras por meio da hibridação consistem na seleção de parentais e sua hibridação, geração F1, condução de populações segregantes,

seleção de plantas individuais, avaliação das linhagens puras em gerações avançadas e produção comercial de sementes da nova cultivar (Bespalhok et al., 1999).

As populações das espécies autógamas são frequentemente constituídas pela mistura de tipos homozigóticos, muitas vezes fenotipicamente semelhantes. No entanto, algumas cultivares que estão em cultivo há longo tempo estão sujeitas à perda da pureza genética, mesmo aquelas que se originaram de uma única linha pura. As razões para isto vão desde a ocorrência de mistura acidental com sementes de outras cultivares, mutações, ou cruzamentos naturais com outras cultivares. Nessas populações geneticamente heterogêneas, podem-se isolar diversas linhas puras por seleção (Borém, 2005).

Sendo assim, no processo de manutenção do estoque de linhagens elites utilizadas nos programas de melhoramento de cultivares, é necessário que as linhagens sejam mantidas com um elevado grau de homozigose e de pureza (Guimarães e Paiva, 2003).

Para avaliação de linhagens endogâmicas produzidas quanto ao seu comportamento *per se* e à sua capacidade de gerar híbridos superiores, podem ser empregadas técnicas de cruzamentos dialélicos, pois permitem a determinação exata da capacidade geral e específica de combinação (Dantas et al., 2002).

2.7. Metodologia dos modelos mistos no melhoramento de plantas

No melhoramento de plantas, as técnicas de avaliação genética desempenham papel fundamental, pois permitem a predição dos valores genéticos aditivos e genotípicos dos candidatos a seleção, propiciando uma seleção mais acurada (Resende, 2000). Tais aspectos são bastante relevantes, tendo em vista que as diferenças em nível de fenótipo entre genótipos agronomicamente superiores são cada vez mais estreitas

O tratamento dos dados experimentais por metodologias de modelos mistos proporciona grande flexibilidade de análises e permite contornar dificuldades causadas por desbalanceamento por perda de parcela. Além disso, a análise dos dados nesta abordagem, considerando que tratamentos genéticos sejam de efeitos aleatórios, permite a recuperação de valores genotípicos, via

melhor preditor linear não viesado (*BLUP – Best Linear Unbiased Predictor*) (Guimarães et al., 2010).

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 predições para os efeitos aleatórios. Para o último, o mais utilizado, atualmente, é o “melhor preditor linear não-viesado” (BLUP) (Candido, 2009), pois permite a maximização dos ganhos genéticos a cada ciclo de seleção.

As principais vantagens do uso do método de modelos mistos na simultânea estimação de parâmetros genéticos e predição de valores genéticos são que: (a) pode ser aplicado a dados desbalanceados; (b) não exige dados obtidos sob estruturas rígidas de experimentação; (c) permite utilizar simultaneamente um grande número de informações provenientes de vários experimentos, gerando estimativas precisas; (d) corrige os dados para os efeitos ambientais e prediz de maneira precisa e não viciada os valores genéticos, conduzindo à maximização do ganho genético com seleção (Resende e Rosa-Perez, 2001).

De acordo com Resende et al. (2001), a estimação de componentes da variância por máxima verossimilhança restrita (REML) e a predição de valores genéticos pela melhor predição linear não viciada (BLUP) tem sido, atualmente, o procedimento analítico padrão recomendado para os estudos em genética quantitativa e também para a prática da seleção em plantas perenes. No entanto, outros métodos têm sido descritos para a predição dos valores genéticos, o qual pode ser efetuado por três procedimentos e situações distintas: a) Melhor Predição (BP - *Best Prediction*) que utiliza os mesmos pesos, ponderadores das informações fenotípicas, para todos os indivíduos candidatos à seleção; b) Melhor Predição Linear (BLP - *Best Linear Prediction*), o qual utiliza diferentes pesos para os candidatos à seleção; e c) Melhor Predição Linear Não-Viesada (BLUP - *Best Linear Unbiased Prediction*), que utiliza o mesmo procedimento do BLP.

No melhoramento de plantas, há exemplos de aplicação dos modelos mistos, principalmente em análises de espécies florestais, tais como, seringueira

(Kalil Filho et al., 2000; Costa et al., 2008), eucalipto (Garcia e Nogueira, 2005), pupunha (Farias Neto e Resende, 2001), café (Resende et al., 2001; Ferrão et al., 2008), acerola (Paiva et al., 2002) e açaí (Farias neto et al., 2007), mas, há também aplicações em espécies anuais, a saber, arroz (Wolf et al., 2008), erva-mate (Simeão et al., 2002) e cana-de-açúcar (Resende e Barbosa, 2006; Pedrozo et al., 2009).

2.8. Marcadores moleculares no melhoramento

Segundo Milach (1998), os marcadores moleculares são características que diferenciam dois ou mais indivíduos e são herdados geneticamente. Podem ser obtidos por métodos que combinam o uso de enzimas de restrição e hibridização entre sequências complementares de DNA, como no caso do “Restriction Fragment Length Polymorphisms” (RFLP) ou pela técnica de Reação da Polimerase em Cadeia (PCR). O grande potencial do uso de marcadores moleculares no melhoramento reside no fato de eles serem praticamente ilimitados em número, de fácil detecção e se comportarem como “caracteres” de herança simples e previsível, livres dos efeitos ambientais (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

A partir da introdução de técnicas de genética molecular no início da década de 80, os estudos de identificação, caracterização e mapeamento genético passaram a ser realizados com maior segurança, rapidez e eficiência. Com o advento das técnicas de marcadores moleculares houve um grande impacto em diversas áreas da ciência, possibilitando a quantificação da variabilidade genética existente dentro e entre espécies distintas, além de ter influenciado positivamente as técnicas de mapeamento, e possibilitado a incorporação de novos alelos provenientes de espécies relacionadas aos programas de melhoramento (Bered, 1997).

Tendo em vista que uma das principais agilidades requeridas do melhorista em programas de melhoramento genético consiste na capacidade de identificar genótipos superiores em uma população segregante, além de conhecer as relações genéticas entre indivíduos e selecionar de forma eficiente genitores para programas de hibridação, o uso de técnicas moleculares desponta como uma ferramenta de grande relevância. Assim, a comunidade científica tem

testemunhado o sucesso no emprego dos marcadores moleculares para diversas finalidades. No melhoramento de plantas tem sido empregado como ferramentas auxiliares no intuito de acelerar a identificação de novos materiais genéticos, haja vista que os procedimentos clássicos demandam muito tempo para chegar a algum resultado, principalmente quando se trata de espécies perenes ou semi-perenes.

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; Parasnis et al., 1999), entre outros.

Entre os marcadores baseados em polimorfismo do DNA, destacam-se os microssatélites (ou SSR). Estes se constituem em alternativa promissora por se tratar de uma técnica relativamente simples, com resolução adequada em matriz de agarose, necessidade de pequena quantidade de DNA para análise e por não exigir conhecimento aprofundado de biologia molecular por parte do analista, nem instalações sofisticadas de laboratório (Oliveira et al., 2006). Repetições de sequências simples (SSRs), ou microssatélites, com repetições em *tandem* de sequências motifs de di- à tetra-nucleotídeos flanqueado por sequências únicas, são ubíquos, abundantes e bem distribuídos em genomas de eucariotos (Wang et al., 1994). Uma limitação relevante para a aplicação desse tipo de marcador é a necessidade de conhecimento prévio das sequências genômicas para o desenvolvimento de iniciadores. No entanto, esta limitação vem diminuindo na cultura do mamoeiro devido ao grande esforço que tem sido direcionado ao sequenciamento genômico e ao desenvolvimento de marcadores microssatélites específicos para a espécie (Eustice et al., 2008).

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

monitoramento da pureza genética, devido às suas características de multialelismo e codominância, apresentando um elevado conteúdo de informação genética por loco. Uma vez identificada a heterozigosidade residual em uma linhagem, elas podem ser submetidas 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).

Outra classe de marcadores moleculares que vem se destacando nos estudos genéticos são os ISSRs (*Inter Simple Sequence Repeats*). Esta técnica consiste na amplificação de regiões inter repetições de sequência simples. São marcadores semiarbitrários, amplificados por PCR na presença de um oligonucleotídeo complementar para um microsatélite designado (Esselman et al., 1999).

Como um marcador com base em PCR, o ISSR tem algumas vantagens quando comparado aos outros marcadores. A amplificação não requer informações de sequências do genoma; cada *primer* anela diretamente a uma sequência simples repetida, diferindo dos marcadores SSR; as sequências-alvo dos ISSRs são abundantes ao longo do genoma de eucariontes e evoluem rapidamente (Fang e Roose, 1997). Assim, os marcadores ISSRs têm sido úteis em estudos genéticos, especialmente em detecção clonal, diversidade e revelação de indivíduos proximamente relacionados (Li e Ge, 2001). Na cultura do mamoeiro, esta técnica vem sendo utilizada para estudo das relações intergenéricas e interespecíficas (Costa et al., 2010) e análise da estrutura genética de espécies relacionadas (Carrasco et al., 2009).

Os ISSRs pertencem à classe de marcadores do tipo SPAR (*Single Primer Amplification Reactions*). Os marcadores SPAR são métodos baseados em PCR que utilizam um único *primer* para amplificação. Esse tipo de marcador foi descrito primeiramente por Grupta et al. (1994), onde utilizaram sequências simples repetidas como *primers*. No entanto, o primeiro método SPAR desenvolvido foi o RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), um marcador bem conhecido e aplicável a todos os genomas, independente da existência ou disponibilidade de conhecimento a respeito das sequências de DNA (Saxena et al., 2005). Devido à alta estringência, os marcadores ISSRs têm a limitação de requerer uma cuidadosa otimização de vários parâmetros da PCR (Li e Ge, 2001), o que lhe

confere maior reprodutibilidade comparado com os marcadores RAPD, possibilitando a obtenção de bandas de forma mais confiável.

3. TRABALHOS

3.1. ANÁLISE MULTIVARIADA NA DETERMINAÇÃO DA DISTÂNCIA GENÉTICA ENTRE PROGÊNIES DE MAMOEIRO (*CARICA PAPAYA L.*) DERIVADAS DE RETROCRUZAMENTO

3.1.1. RESUMO

A análise baseada em dados moleculares (marcadores RAPD e ISSR), morfogenômicos e a análise conjunta de ambos os dados foi utilizada para avaliar a distância genética entre progênies de mamoeiro derivadas de retrocruzamento, auxiliando na identificação de genótipos divergentes e superiores agronomicamente. Trinta e duas progênies de mamão foram avaliadas com base em quinze características morfoagronômicas, além da análise de 20 iniciadores ISSR e 19 RAPD. A distância de Manhattan, Jaccard e Gower foram utilizadas para estimar a divergência em dados contínuos, binários e a análise conjunta, respectivamente. Os resultados possibilitaram verificar que, com exceção da produção, as demais variáveis contínuas apresentaram diferença significativa entre os genótipos avaliados. A análise molecular resultou em um total de 193 marcadores do tipo dominante (ISSR e RAPD), sendo 53 polimórficos. Entre os agrupamentos gerados, o baseado na análise conjunta dos

dados morfoagronômicos e moleculares apresentou o maior valor de correlação cofenética (0,72) em relação às análises individuais, alocando de forma coerente as progênies avaliadas dentro de seis grupos. Os resultados obtidos indicam que o algoritmo Gower foi mais coerente na discriminação das populações avaliadas, demonstrando que a combinação dos dados moleculares e contínuos desponta como uma potencial metodologia a ser empregada em estudos de dissimilaridade genética na cultura do mamoeiro.

3.1.2. ABSTRACT

The analysis based on molecular data (RAPD and ISSR), morphoagronomic and joint analysis of both the data was used to evaluate the genetic distance between papaya progenies derived from backcrossing and assist in the identification of divergent genotypes and agronomically superior. Thirty-two papaya progenies were evaluated based on fifteen morphological characteristics, besides the analysis of 20 ISSR and 19 RAPD primers. The Manhattan distance, Jaccard and Gower were used to estimate the difference in continuous data, binary and joint analysis, respectively. The results show that, except for production, the other continuous variables showed significant differences between genotypes. The molecular analysis resulted in a total of 193 markers of the dominant type (ISSR and RAPD), being 53 polymorphic. Among the clusters generated, the based on combined analysis of morphological and molecular data showed the highest cophenetic correlation (0.72) compared to individual analysis, consistently allocating the progenies in six groups. The results indicate that the algorithm Gower was more consistent in the discrimination of populations, demonstrating that the combination of molecular and continuous data appears as a potential methodology to be used in studies of genetic dissimilarity in papaya.

3.1.3. INTRODUÇÃO

O mamão (*Carica papaya* L.) pertence à pequena família *Caricaceae*, a qual compreende 35 espécies alocadas em seis gêneros. Do total de espécies, 32 são dióicas, duas trióicas e uma monóica (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. O seu germoplasma apresenta considerável variação fenotípica para muitas características de importância horticultural, 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). No entanto, quando se refere a cultivares comerciais, verifica-se uma restrita variabilidade genética, sendo os plantios comerciais no Brasil constituído basicamente por três principais variedades (Sunrise Solo, Golden e o híbrido Tainung nº1), evidenciando-se, assim, a necessidade de desenvolvimento de novos materiais genéticos.

A quantificação do grau de dissimilaridade genética entre gêneros, espécies, subespécies, populações e materiais elites melhorados é essencial tanto para a genética de populações (Reif et al., 2005) quanto para o sucesso de programas de melhoramento que visam o desenvolvimento de novas cultivares (Máric et al., 2004). Além de proporcionar um melhor entendimento da organização de germoplasma e aumentar a eficiência na amostragem de genótipos, o conhecimento da distância genética também permite a escolha de cruzamentos orientada biologicamente (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 relacionado ao ganho genético obtido através da seleção artificial. Os resultados das análises de diversidade também podem ser utilizados para recomendar novas cultivares quando a meta é aumentar a base genética de cultivares comerciais (Vieira et al., 2007).

Estudo de diversidade genética tem sido definido como o processo pelo qual a variação entre indivíduos, grupos de indivíduos ou populações é realizada por um método específico ou uma combinação de métodos, a partir de diversos grupos de dados (Mohammadi et al., 2004). Nesse contexto, as análises moleculares e morfológicas estão entre as ferramentas mais utilizadas e informativas para a estimativa da diversidade (Máric et al., 2004), contribuindo substancialmente nas diferentes etapas dos programas de melhoramento, por permitir a determinação das singularidades e diferenças em relação à constituição genética e fenotípica de genótipos (Franco et al., 2001).

Devido ao fato de a expressão fenotípica ser influenciada por fatores externos, tais como condições ambientais, idade da planta, entre outros, os estudos genéticos a partir de caracteres morfoagronômicos têm sido considerado de baixa acurácia (Vieira et al., 2007). Já os estudos baseados em métodos moleculares têm se tornado cada vez mais comuns, testemunhando grandes avanços em programas de melhoramento. Esses vêm sendo utilizados como ferramenta adicional nos estudos genéticos por apresentar a vantagem de ter menor efeito ambiental e prover informações diretas do genoma de cada indivíduo (Lefebvre et al., 2001; Máric et al., 2004). No entanto, a análise dessas duas categorias de dados separadamente pode resultar em inferências fragmentadas e, muitas vezes, imprecisas, dificultando a compreensão das relações genéticas entre os materiais estudados.

Alguns estudos em mamão têm reportado análises intra e intergenéricas utilizando dados morfológicos, isoenzimas, RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), marcadores moleculares baseados em PCR do tipo AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polimorphic DNA), ISSR (Inter Simple Sequence Repeat), DAMD (Directed Amplification of Minisatellite DNA) e microssatélites ou SSR (Simple Sequence Repeats) (Jobin-Decor et al., 1997; Parasnis et al., 1997; Aradhya et al., 1999; Van Droogenbroeck et al., 2002; Vitória et al., 2004; Kyndt et al., 2005; Van Droogenbroeck et al., 2005; Saxena et al., 2005; Ocampo et al., 2006; Pérez et al., 2006; Silva et al., 2007; Dinesh et al., 2007; Eustice et al., 2008; Costa et al., 2010; Oliveira et al., 2010). No entanto, estudos que visam a utilização de dados morfoagronômicos e moleculares em conjunto para acessar a diversidade genética de materiais utilizados em programas de melhoramento são escassos.

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 duas observações, considerando, simultaneamente, as medidas de variáveis categóricas e contínuas (Crossa and Franco, 2004). O algoritmo Gower provê uma matriz definida semipositiva, com valores compreendidos entre 0 e 1, fazendo-se necessário a padronização das variáveis utilizadas.

Nesse sentido, o objetivo do presente estudo foi: i) estimar a distância genética entre populações derivadas de retrocruzamento, utilizando dados morfoagronômicos, moleculares e a análise conjunta; ii) analisar a eficiência de tais metodologias em acessar a diversidade genética e distinguir de forma coerente as progênies avaliadas neste trabalho; e iii) realizar a seleção de genótipos superiores para o avanço de geração por autofecundação.

3.1.4. MATERIAL E MÉTODOS

3.1.4.1. Material vegetal

Foram avaliadas plantas hermafroditas de 26 famílias derivadas de retrocruzamento (RC). Dessas, dezesseis são progênies derivadas da primeira geração de retrocruzamento (RC₁), uma da segunda (RC₂) e nove da terceira (RC₃), conforme Tabela 1. O diferente número de progênies por geração se deve à disponibilidade de famílias em cada geração, o qual é resultado da pressão de seleção efetuada em ciclos anteriores. Também foram incluídas nesse estudo quatro testemunhas [Golden, SS783 (genitor doador), SS72/12, UENF/Caliman 01] e duas progênies resultantes de cruzamento teste (RC₃(2)XSS72/12 e RC₃(3)XSS72/12).

As progênies segregantes avaliadas foram derivadas do cruzamento inicial entre o genótipo dióico Cariflora (genitor recorrente) e a cultivar Sunrise Solo 783 (genitor doador) no programa de retrocruzamento. Esse programa tem como

Tabela 1 - Materiais genéticos avaliados no presente estudo

Progênie	Identificação	Origem da progênie
10	RC ₁ XSS72/12-6IS ₂	1ª geração de retrocruzamento, 2ª de autofecundação
2	52RC ₁ -2-2S ₃	1ª geração de retrocruzamento, 3ª de autofecundação
3	52RC ₁ -36-16S ₃	1ª geração de retrocruzamento, 3ª de autofecundação
4	52RC ₁ -34-5S ₃	1ª geração de retrocruzamento, 3ª de autofecundação
5	52RC ₁ -34-10S ₃	1ª geração de retrocruzamento, 3ª de autofecundação
6	52RC ₁ -36-9S ₃	1ª geração de retrocruzamento, 3ª de autofecundação
7	52RC ₁ -34-9S ₃	1ª geração de retrocruzamento, 3ª de autofecundação
8	52RC ₁ -36-4S ₃	1ª geração de retrocruzamento, 3ª de autofecundação
12	RC ₁ XSS72/12-7IS ₂	1ª geração de retrocruzamento, 2ª de autofecundação
9	52RC ₁ -27-5S ₃	1ª geração de retrocruzamento, 3ª de autofecundação
11	RC ₁ XSS72/12-6IIS ₂	1ª geração de retrocruzamento, 2ª de autofecundação
13	RC ₁ XSS72/12-7IIS ₂	1ª geração de retrocruzamento, 2ª de autofecundação
15	RC ₁ XSS72/12-10S ₂	1ª geração de retrocruzamento, 2ª de autofecundação
14	RC ₁ XSS72/12-8S ₂	1ª geração de retrocruzamento, 2ª de autofecundação
16	17RC ₂ -7S ₂	2ª geração de retrocruzamento, 2ª de autofecundação
1	16RC ₁ -37-6S ₃	1ª geração de retrocruzamento, 3ª de autofecundação
17	Segregante-S ₁	Progênie segregante de origem desconhecida
18	20RC ₃ -S ₁	3ª geração de retrocruzamento, 1ª de autofecundação
19	21RC ₃ -S ₁	3ª geração de retrocruzamento, 1ª de autofecundação
20	22RC ₃ -S ₁	3ª geração de retrocruzamento, 1ª de autofecundação
21	19RC ₃ -S ₁	3ª geração de retrocruzamento, 1ª de autofecundação
22	6RC ₃ -S ₁	3ª geração de retrocruzamento, 1ª de autofecundação
23	16RC ₃ -S ₁	3ª geração de retrocruzamento, 1ª de autofecundação
24	5IRC ₃ -S ₁	3ª geração de retrocruzamento, 1ª de autofecundação
25	5IIRC ₃ -S ₁	3ª geração de retrocruzamento, 1ª de autofecundação
26	4RC ₃ -S ₁	3ª geração de retrocruzamento, 1ª de autofecundação

I: planta selecionada na repetição 1 da geração anterior; II: planta selecionada na repetição 2 da geração anterior

finalidade transferir para o genótipo Cariflora a região genômica que determina a expressão do hermafroditismo em mamoeiro, haja vista que tal genótipo apresenta boa capacidade combinatória (geral e específica) quando cruzados com genótipos do grupo 'Solo' (Marin et al., 2006). A obtenção do genótipo Cariflora convertido para o sexo, ou seja, hermafrodita, permitirá a obtenção de linhagens e, conseqüentemente, o desenvolvimento de híbridos estáveis.

Os genótipos foram avaliados com base em caracteres morfoagronômicos (variáveis contínuas) e por marcadores de DNA (variáveis binárias).

3.1.4.2. Local e delineamento experimental

As avaliações das variáveis morfoagronômicas foram realizadas em experimento instalado em fevereiro de 2008 na área comercial da empresa Caliman Agrícola S/A (Fazenda Romana), localizada no município de Linhares (19°23'28" de latitude sul e 40°04'20" de longitude oeste, altitude=33 metros), no Estado do Espírito Santo. Foi utilizado o delineamento em blocos ao acaso com 32 tratamentos, duas repetições e 15 plantas por parcela, com espaçamento de 3,60 m entre fileira e de 1,80 m entre plantas na fileira. Do total de 960 plantas do experimento, apenas 508 genótipos foram avaliados devido à taxa de segregação entre plantas hermafroditas e femininas de 2:1 gerada pela autofecundação, bem como devido à perda de plantas por doença.

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. Caracteres avaliados

Um total de quinze caracteres morfoagronômicos foi mensurado e utilizado para analisar as progênies avaliadas no presente estudo. As avaliações foram feitas conforme Silva et al. (2008), com acréscimo de três caracteres, sendo eles: i) Número de frutos deformados - NFrD: determinado pela contagem de frutos carpelóides e pentândricos em plantas hermafroditas; ii) Número de nós sem fruto - NNSFr: determinado pela contagem de nós onde não houve desenvolvimento de fruto (devido ao aborto da flor ou à reversão sexual) e; iii)

Espessura da polpa - EP (cm): determinada pela média de duas medidas (espessura maior e menor) após corte transversal do fruto.

3.1.4.4. Extração de DNA genômico e condições de PCR

A análise molecular utilizando os marcadores ISSR e RAPD foi conduzida no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LMGV) da UENF. Os materiais genéticos submetidos à análise molecular foram coletados em *bulk* no intuito de obter uma maior representatividade alélica das famílias avaliadas. O *bulk* foi constituído por amostra de tecido vegetal de 10 plantas de cada progênie. A extração do DNA genômico de folhas jovens foi efetuada seguindo o método CTAB (Doyle & Doyle, 1990), com algumas modificações sugeridas por Daher et al. (2002). Após a extração, o DNA foi quantificado por análise em gel de agarose a 0,8%, e diluído para a concentração de trabalho de 10ng/ μ L, utilizando o marcador High DNA Mass Ladder (Invitrogen, USA). O gel foi corado em solução de brometo de etídeo e a imagem capturada pelo sistema de fotodocumentação MiniBis Pro (Bio-Imaging Systems).

3.1.4.4. Marcadores moleculares ISSR e RAPD

Para a caracterização molecular foram utilizados 19 iniciadores RAPD e 20 iniciadores ISSR (Tabela 2). As análises com o marcador RAPD foram realizadas conforme descrito por Williams et al. (1990). As condições de PCR para a análise com o marcador ISSR foram as seguintes: 2 μ L de tampão 10X (500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl pH 8.4, 1% Triton X-100); 0.5 μ M de *primer* (100 μ M), 2 mM de MgCl₂, 100 μ M de cada dNTP, 0.6U de Taq DNA polymerase; 1 μ L (5%) of DMSO e 2 μ L de DNA genômico (5ng/ μ L), completando com água para o volume final de 20 μ L. As reações de amplificação foram feitas em termociclador gradiente Mastercycler Eppendorf 5331, de acordo com o seguinte programa: 94°C por 4 minutos, seguido por 40 ciclos a 94°C por 1 minuto, 46°C - 50°C (temperatura variou de acordo com o *primer*) por 2 minutos, 72°C por 2 minutos, e uma extensão final de 72°C por 7 minutos. Os produtos de amplificação (tanto do RAPD quanto do ISSR) foram separados em gel de agarose 2%, corado com a mistura de GelRedTM e Blue Juice (1:1), e visualizado através do sistema de fotodocumentação MiniBis Pro (Bio-Imaging Systems). O marcador DNA Ladder

(Invitrogen, USA) de 250pb foi utilizado durante as corridas para determinar o tamanho dos fragmentos amplificados.

Tabela 2 - Sequências dos vinte *primers* ISSR e dezenove *primers* RAPD utilizados no trabalho e respectivas temperaturas de anelamento

Nº do <i>primer</i>	Sequência (5' → 3')	TM (°C)
Primers ISSR		
1	AC AC AC AC AC AC AC AC AC	58
2	GTC GTC GTC GTC GTC GTC	58
3	AGC AGC AGC AGC AGCY	52
4	AGC AGC AGC AGC AGCAY	65
5	CA CA CA CA CA CA CA CARG	45
6	AGC AGC AGC AGC AGCGR	65
7	CAGA CAGA CAGA CAGA	56
8	CT CT CT CT CT CT CT CTC	45
9	CT CT CT CT CT CT CT CTTG	42
10	AG AG AG AG AG AG AG AGYR	42
11	CTC CTC CTC CTC CTC CTC	50
12	GTC GTC GTC GTC GTC Y	58
13	GTG GTG GTG GTG GTGGR	50
14	GA GA GA GA GA GA GA GA GAT	48
15	GA GA GA GA GA GA GA GA GAYC	48
16	CA GA GA GA GA GA GA GA GA	52
17	GC GA GA GA GA GA GA GA GA	56
18	GGGTGGGGTGGGGTG	56
19	ATG ATG ATG ATG ATG ATGG	52
20	AG AG AG AG AG AG AG AGYT	51
Primers RAPD		
1	TCTGTGCTGG	36
2	TGCGCCCTTC	36
3	ACGGAAGCCC	36
4	CCTGGGTCAG	36
5	CTGTGTGCTC	36
6	CACGAACCTC	36
7	TGAGCGGACA	36
8	GTGTGCCCCA	36
9	ACTGGGACTC	36
10	ACCCGGTCAC	36
11	GTGCAACGTG	36
12	TCTGGCGCAC	36
13	GAGACGCACA	36
14	GACCTACCAC	36
15	GTAACCAGCC	36
16	GGTGCACGTT	36
17	CCCGTAGCAC	36
18	CCCGTTGCCT	36
19	GGGCCACTCA	36

Y: C ou T; R: A ou G

3.1.4.5. Análise dos dados

Inicialmente, os caracteres morfoagronômicos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para verificar a existência de variabilidade genética estatisticamente significativa entre os genótipos. Para tanto, a fonte de variação 'genótipo' foi considerada como de efeito fixo, ou seja, seguindo o delineamento experimental do tipo 1, conforme quadro abaixo:

Quadro 1 - Esquema da análise de variância aplicada às características morfoagronômicas avaliadas, com as respectivas esperanças matemáticas dos quadrados médios

FV	GL	QM	EQM	F
Bloco	r-1	QMB	$\sigma^2 + rg\sigma^2B$	QMB/QME
Genótipo	g-1	QMG	$\sigma^2 + r\Phi G$	QMG/QME
Erro	(r-1)(g-1)	QME	σ^2	

Em que:

r : número de repetições (blocos);

g : número de tratamentos (ou famílias);

σ^2B : componente de variância de bloco;

Φg : componente de variabilidade genotípica;

σ^2 : componente de variância residual.

Em seguida, as médias foram ordenadas utilizando o teste da Diferença Mínima Significativa (DMS), a 5% de probabilidade. Os dados quantitativos também foram submetidos à análise de divergência genética, utilizando-se como método de dissimilaridade a distância de Manhattan, pelo qual foi obtida a matriz de distância.

Para a análise dos dados moleculares, os produtos de amplificação obtidos pelos iniciadores ISSR e RAPD foram transformados em uma matriz de dados binários (atribuindo-se 0 para ausência e 1 para presença da banda) e, a partir desta, foi obtida a matriz de dissimilaridade considerando o complemento aritmético do índice de Jaccard.

A análise de dissimilaridade genética também foi realizada considerando simultaneamente os dados moleculares e morfoagronômicos. Para tanto, a

estimativa da matriz de distância genética foi obtida com base no índice de similaridade proposto por Gower (1971). Esse índice varia de 0 a 1, calculado por:

$$S_{ij} = \frac{\sum_{k=1}^p W_{ijk} S_{ijk}}{\sum_{k=1}^p W_{ijk}},$$

onde k é o número de variáveis ($k=1, 2, \dots, p$); i e j qualquer dois indivíduos; W_{ijk} é um peso atribuído para comparação ijk , atribuindo 1 para comparações válidas e 0 para comparações inválidas (se o valor da variável é ausente em um ou ambos indivíduos); S_{ijk} é a contribuição da variável k para a similaridade entre indivíduos i e j , com valores entre 0 e 1. Esta análise possibilita a eliminação das diferenças entre escalas das variáveis, produzindo um valor dentro do intervalo [0, 1] e pesos iguais.

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*) e Vizinho Mais Próximo (Saitou e Nei, 1987). O ajuste entre a matriz de distância e a matriz de agrupamento 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.

Os programas estatísticos utilizados nas análises foram o GENES (Cruz, 2008), para a análise de variância (ANOVA), teste de comparação de médias e análise de significância das correlações. O programa R (R Development Core Team, 2006) foi utilizado para análise da distância genética (dados morfoagronômicos e moleculares) e para a estimação do coeficiente de correlação cofenética. Os agrupamentos hierárquicos foram realizados 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 and Smouse, 2009).

3.1.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para uma interpretação mais precisa dos dados a condição de normalidade das 15 características foi verificada pelo teste Shapiro-Wilk. As análises indicaram que as variáveis número de frutos deformados e frutos comerciais não seguiam distribuição normal. Sendo assim, estas foram submetidas à transformação dos dados, seguindo a expressão $\sqrt{x} + \frac{1}{2}$.

Exceto para produção, as demais variáveis apresentaram diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F. Apesar de não ter sido detectada diferença significativa para produção, ao examinar o valor máximo e mínimo (Tabela 3), verifica-se que algumas famílias apresentaram médias até quatro vezes o limite inferior para esta característica. Assim, a ausência de significância pode estar relacionada com elevada influência ambiental sobre esta característica, o que resulta em alto erro experimental, dificultando a diferenciação entre os genótipos. Isso pode ser evidenciado pela análise do coeficiente de variação experimental (CV_e) no qual a variável produção apresentou o maior valor entre todas as características avaliadas.

O coeficiente de variação experimental (CV_e) para as características avaliadas foi relativamente baixo (4 a 23, %), exceto para frutos totais e comerciais que apresentaram valores maiores do que 30% (30,8% e 34,34%, respectivamente) (Tabela 3). Por outro lado, o coeficiente de variação genotípico (CV_g) variou de 5 a 32%, sendo os maiores valores verificados para frutos totais, deformados, nós sem fruto e peso médio do fruto. Esse resultado é interessante para o programa de melhoramento, pois a variação genética existente em caracteres que contribuem para a redução da produção (NFrD e NNSFr) pode possibilitar a seleção de genótipos com maior produtividade. A relação entre esses dois parâmetros (CV_e e CV_g), ou seja, o índice de variação (I_v), indica que a situação é altamente favorável à seleção para onze variáveis (AP, AIPF, NFrT, NFrD, NFrCo, PM, SS, DIAM, COMP e EP), de acordo com Vencovsky (1987). No entanto, para produção e firmeza da polpa e do fruto a resposta à seleção pode não ser tão favorável, indicando limitado progresso genético.

De acordo com o teste de comparação de médias determinado pelo método da Diferença Mínima Significativa (DMS) (Tabela 3), das 15

Tabela 3 - Teste de comparação de médias e resumo da análise de variância para as 15 características avaliadas em 32 progênes de mamão

Genótipos	Características avaliadas							
	AP	AIPF	DC	NFrT	NFrD	NNSFr	NFrCo	PROD
RC ₁ XSS72/12-6S ₂	239,7	116,2	43,8	47,0	0,9	17,4	6,9	18507,8
52RC ₁ -2-2S ₃	170,0	65,8	34,9	27,7	1,6	18,8	4,9	20796,4
52RC ₁ -36-16S ₃	176,7	83,5	33,1	40,2	2,9	12,2	5,7	20146,6
52RC ₁ -34-5S ₃	185,8	93,8	30,2	40,8	1,4	9,9	6,3	20742,9
52RC ₁ -34-10S ₃	187,4	85,9	33,2	36,9	1,3	18,2	6,0	22679,4
52RC ₁ -36-9S ₃	208,1	103,1	34,2	56,2	3,0	10,7	6,9	28454,4
52RC ₁ -34-9S ₃	161,4	80,3	29,5	18,5	2,0	22,6	3,9	12648,3
52RC ₁ -36-4S ₃	194,6	87,5	35,2	31,5	1,6	17,3	5,5	20034,3
RC ₁ XSS72/12-7IS ₂	231,1	102,2	40,7	31,9	1,2	23,7	5,6	20622,4
52RC ₁ -27-5S ₃	167,9	74,2	31,7	30,7	1,4	20,0	5,4	17442,7
RC ₁ XSS72/12-6IIS ₂	172,1	77,5	34,9	39,9	2,4	11,6	5,9	21455,1
RC ₁ XSS72/12-7IIS ₂	213,0	135,3	36,7	27,7	2,7	11,8	4,5	10626,2
RC ₁ XSS72/12-10S ₂	159,7	70,8	31,0	37,9	2,9	10,1	5,4	24187,1
RC ₁ XSS72/12-8S ₂	188,7	100,6	35,8	28,5	2,2	11,2	4,9	15467,8
17RC ₂ -7S ₂	207,5	96,6	38,7	22,9	2,2	23,1	4,4	15899,3
16RC ₁ -37-6S ₃	213,8	105,7	35,5	42,1	2,4	14,3	5,9	26020,6
Segregante-S ₁	169,3	93,7	30,9	23,9	3,6	11,1	3,4	21170,1
20RC ₃ -S ₁	243,0	100,0	41,9	65,2	1,5	10,9	4,6	18860,0
21RC ₃ -S ₁	216,7	98,3	38,5	25,5	1,2	20,2	4,9	31564,6
22RC ₃ -S ₁	214,2	97,3	33,2	32,3	1,5	15,2	5,5	27705,0
19RC ₃ -S ₁	199,4	97,1	31,3	21,7	1,7	17,3	4,4	14486,6
6RC ₃ -S ₁	188,6	93,5	34,4	20,3	2,6	19,4	3,7	19323,7

Tabela 3 - Continuação.

Genótipos	Características avaliadas							
	AP	AIPF	DC	NFrT	NFrD	NNSFr	NFrCo	PROD
16RC ₃ -S ₁	195,1	90,2	31,5	19,5	1,7	22,9	4,1	15101,7
5IRC ₃ -S ₁	212,0	108,5	38,7	25,1	2,6	19,0	4,4	13565,1
5IIRC ₃ -S ₁	213,6	106,9	35,5	20,1	2,8	21,7	3,6	12228,3
4RC ₃ -S ₁	190,2	92,1	34,2	18,4	1,5	28,3	4,1	31815,0
UENF01	222,7	123,9	32,9	15,6	1,6	24,6	3,7	13832,3
SS783	234,9	123,2	37,9	26,2	1,2	19,9	5,1	16040,9
SS72/12	203,2	103,4	39,6	60,0	1,7	4,6	7,6	26798,1
Golden	225,1	125,4	35,5	37,0	0,9	20,5	6,1	16746,1
RC3(3)XSS72/12	240,0	125,0	41,0	30,8	1,2	18,1	5,5	19683,3
RC3(2)XSS72/12	219,6	121,1	34,9	24,8	1,8	15,2	4,7	15490,6
DMS (5%)	38,4	27,1	7,8	20,2	0,9	7,5	1,7	13793,0
QMG	1159,4**	558,35**	26,02**	299,60**	0,99**	57,94**	2,13**	60911521,7
QMR	355,06	175,87	14,67	98,11	0,21	13,42	0,72	45736614,7
Média	202,04	99,35	35,36	32,11	1,93	16,93	5,11	19691,97
Máximo	270,0	143,46	48,0	87,0	3,8	31,57	8,56	42746,25
Mínimo	140,0	40,0	27,5	12,11	0,71	1,9	2,92	8300,0
CV _e (%)	9,33	13,35	10,01	30,84	23,92	21,63	16,58	34,34
CV _g (%)	9,92	14,37	6,74	31,26	32,41	27,85	16,42	13,99
lv(%)	1,06	1,08	0,62	1,01	1,35	1,29	0,99	0,41

AP: altura da planta; AIPF: altura da inserção do primeiro fruto; DC: diâmetro do caule; NFrT: número de frutos totais; NFrD número de frutos deformados; NNSFr: número de nós sem frutos; NFrCo: número de frutos comerciais; PROD: produção por planta;

Tabela 3 - Continuação.

Genótipos	Características avaliadas						
	PM	SS	FE	FI	DIAM	COMP	EP
RC ₁ XSS72/12-6S ₂	413,9	13,5	111,7	73,3	8,4	13,9	2,0
52RC ₁₋₂₋₂ S ₃	819,7	10,5	111,2	62,6	10,7	16,5	2,6
52RC ₁₋₃₆₋₁₆ S ₃	584,7	10,4	112,2	82,8	9,8	13,3	2,4
52RC ₁₋₃₄₋₅ S ₃	464,8	11,1	107,3	83,8	9,1	14,1	2,0
52RC ₁₋₃₄₋₁₀ S ₃	571,1	11,2	114,5	79,2	9,2	16,0	2,1
52RC ₁₋₃₆₋₉ S ₃	637,5	10,3	106,9	77,6	9,9	14,9	2,4
52RC ₁₋₃₄₋₉ S ₃	892,9	10,7	113,5	80,1	10,7	16,9	2,7
52RC ₁₋₃₆₋₄ S ₃	723,3	10,3	105,6	75,6	9,6	15,9	2,3
RC ₁ XSS72/12-7IS ₂	530,6	12,4	125,4	72,4	8,7	16,7	2,1
52RC ₁₋₂₇₋₅ S ₃	556,2	10,8	94,6	72,0	9,1	14,9	2,5
RC ₁ XSS72/12-6IIS ₂	574,9	10,5	91,7	74,3	9,5	14,4	2,3
RC ₁ XSS72/12-7IIS ₂	476,0	13,7	113,7	70,1	8,9	13,6	2,0
RC ₁ XSS72/12-10S ₂	824,4	9,3	99,6	74,7	10,0	17,2	2,7
RC ₁ XSS72/12-8S ₂	646,5	11,7	108,8	72,1	9,5	16,2	2,7
17RC ₂₋₇ S ₂	782,1	12,7	121,0	85,3	9,8	17,2	2,6
16RC ₁₋₃₇₋₆ S ₃	745,8	10,5	94,1	71,9	10,4	15,6	2,3
Segregante-S ₁	1180,3	9,5	111,6	74,1	12,0	18,8	2,8
20RC _{3-S} ₁	432,5	13,1	121,8	81,3	9,2	13,2	1,8
21RC _{3-S} ₁	1161,9	10,9	111,8	77,7	10,8	19,9	2,9
22RC _{3-S} ₁	732,4	11,4	104,3	76,1	10,1	16,6	2,6
19RC _{3-S} ₁	765,9	11,2	93,6	71,9	10,8	18,2	2,4
6RC _{3-S} ₁	1185,6	11,1	112,2	80,0	11,3	20,5	2,8

Tabela 3 - Continuação.

Genótipos	Características avaliadas						
	PM	SS	FE	FI	DIAM	COMP	EP
16RC ₃ -S ₁	747,1	11,3	96,2	79,1	10,6	17,2	2,5
5IRC ₃ -S ₁	719,9	12,7	125,2	85,8	9,7	16,9	2,4
5IIRC ₃ -S ₁	866,5	11,9	106,4	87,9	10,1	17,3	2,5
4RC ₃ -S ₁	839,4	10,7	117,3	73,3	10,5	16,4	2,6
UENF01	1018,1	13,1	111,3	80,7	10,5	20,5	2,5
SS783	644,6	10,6	92,4	70,9	9,4	15,6	2,2
SS72/12	448,2	11,5	108,1	65,7	8,4	13,8	1,9
Golden	458,4	11,2	103,6	67,2	8,5	14,3	2,1
RC3(3)XSS72/12	669,2	12,0	89,9	67,8	10,2	15,3	2,4
RC3(2)XSS72/12	663,4	12,0	102,2	69,8	9,9	15,1	2,2
DMS (5%)	211,8	1,2	18,6	12,7	0,9	2,0	0,2
QMG	90054,3**	2,37**	190,05*	75,25*	1,48**	7,74**	0,15**
QMR	10783,1	0,36	83,13	38,63	0,21	0,96	0,02
Média	711,81	11,37	107,49	75,55	9,89	16,15	2,39
Máximo	1318,75	13,98	139,02	97,91	12,34	20,95	3,11
Mínimo	393,33	9,25	83,13	53,4	8,14	13,1	1,83
CV _e (%)	14,59	5,32	8,48	8,23	4,63	6,08	5,17
CV _g (%)	27,97	8,81	6,80	5,66	8,08	11,40	10,97
Iv(%)	1,92	1,65	0,80	0,69	1,74	1,85	2,12

PM: peso médio de fruto; SS: teor de sólidos solúveis; FE: firmeza do fruto; FI: firmeza da polpa; DIAM: diâmetro médio do fruto; COMP: comprimento médio do fruto; EP: espessura média da polpa

características avaliadas nesse estudo, para cinco delas (DC, NFrT, NNSFr, NFrCo) não houve progênies com média estatisticamente inferior a média geral, sendo este resultado pouco interessante para nós sem fruto (NNSFr), visto que busca-se a redução da expressão dessa característica na população. Por outro lado, apenas para as características firmeza do fruto e da polpa as progênies não apresentaram média estatisticamente superior a média geral, indicando reduzida possibilidade de progresso genético. Entre as variáveis avaliadas, observou-se que aproximadamente 50% das progênies não diferiram em relação a diâmetro do caule e produção, ao passo que para peso médio, diâmetro do fruto e espessura da polpa houve uma maior discriminação das progênies.

Analisando as gerações de retrocruzamento separadamente, verifica-se que entre as progênies derivadas da geração RC₁ houve diferença significativa para todas as variáveis contínuas avaliadas. Já para as progênies derivadas da geração RC₃, apenas para altura do primeiro fruto não houve diferença estatística. Assim, com base na análise das características morfoagronômicas, é possível inferir que as progênies derivadas de RC₁ apresentam maior variabilidade do que as derivadas de RC₃, sendo as características teor de sólidos solúveis e nós sem fruto as mais divergentes dentro de RC₁ e RC₃, respectivamente. Esse resultado está de acordo com o esperado tendo em vista que há maior variação em termos de *pedigree* entre as progênies derivadas de RC₁. Por outro lado, a única progênie derivada de RC₂ não diferiu estatisticamente das testemunhas apenas para altura da planta, deformação de frutos e produção.

Para a análise da divergência genética utilizando-se métodos aglomerativos, tanto os agrupamentos obtidos pelo método hierárquico UPGMA como os obtidos pelo Vizinheiro Mais Próximo não apresentaram boa concordância com a genealogia das progênies avaliadas com base nos dados quantitativos e moleculares. No entanto, o método Neighbor Joining possibilitou agrupamentos mais definidos e, portanto, foram considerados neste trabalho.

A análise de divergência genética baseada nos caracteres contínuos, estimada pela distância de Manhattan, revelou que as progênies mais distantes foram Segregante-S₁ e RC₁XSS72/12-6IS₂, enquanto que as mais próximas foram RC₃(2)XSS72/12 e 20RC₃-S₁. A análise de agrupamento permitiu verificar a formação de sete grupos, com um corte na distância de 0,35, sendo esta a distância genética média (Figura 1-A). Desses, três grupos reuniram um número

maior de genótipos (grupos I, V e VII); o grupo VII apresentou maior variabilidade em termos de genealogia, incluindo representantes das três gerações de retrocruzamento, enquanto que o grupo V é formado exclusivamente por progênies derivadas do RC₁ e o grupo I por testemunhas do grupo 'Solo' (Golden e SS72/12) pela progênie 20RC₃-S₁ e por progênies derivadas do cruzamento entre uma planta RC₁ e a cultivar SS72/12. Entre os demais grupos formados, o grupo II foi constituído pelas progênies RC₃(2)X72/12, RC₃(3)X72/12 e pela cultivar SS783; o grupo IV pelas progênies 22RC₃-S₁, 16RC₁-37-6S₃ e 52RC₁-36-9S₃, enquanto que os grupos III e VI foram constituídos pelas progênies RC₁X72/12-8S₂ e 52RC₁-2-2S₃, respectivamente.

Os grupos VI e VII são caracterizados por apresentar frutos de tamanho médio, diferindo, principalmente, em relação ao peso médio de fruto. Por outro lado, os representantes dos grupos I, II, III, IV e V apresentam frutos pequenos, divergindo, principalmente, em relação à produção por planta e teor de sólidos solúveis. Com base nestas descrições dos grupos, pode-se inferir que os caracteres relacionados ao tamanho do fruto (peso médio, comprimento e diâmetro) claramente contribuíram para a distinção das progênies, alongando-as em dois principais grupos. No entanto, o vigor das plantas e a baixa firmeza do fruto podem ter contribuído para distinguir a progênie 52RC₁-2-2S₃ das demais progênies do grupo VII.

A análise das variáveis binárias consistiu na soma dos dados obtidos pelos marcadores ISSR e RAPD (Tabela 4). Um total de 98 marcadores foi obtido a partir da análise dos 20 iniciadores ISSR, gerando uma média de 4,9 bandas/*primer*, com números variando de 2 a 8. Do total de bandas claramente amplificadas, 18 (18,4%) foram polimórficos entre as 32 progênies estudadas. Para a análise com o marcador RAPD, foram utilizados 19 iniciadores, os quais geraram um total de 95 marcas. Dessas, 35 (36,8%) foram polimórficas, com uma média de 5,0 bandas/*primer* (variando de 2 a 8). Analisando as duas técnicas separadamente, verifica-se que os marcadores RAPD geraram o dobro de polimorfismo em relação aos ISSR. Este resultado pode estar relacionado com a menor especificidade da primeira técnica em relação à segunda. No total, foram analisados 193 marcadores do tipo dominante, sendo 53 (27,5%) polimórficos, revelando uma baixa variabilidade genética entre as progênies avaliadas.

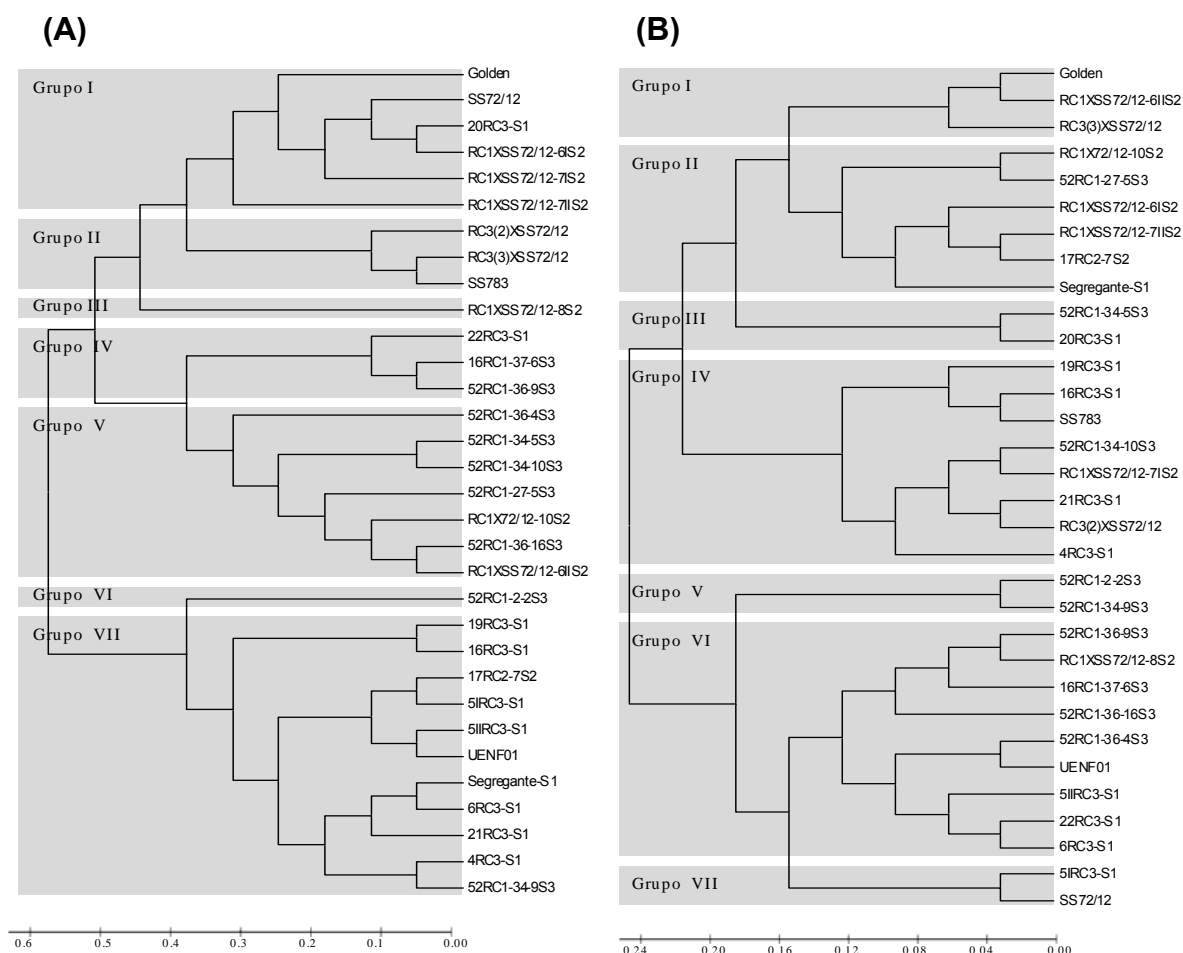


Figura 1 - Dendrograma obtido pelo método hierárquico Vizinho Mais Próximo baseado na análise de 32 famílias de mamão usando: A - distância de Manhattan para análise de 15 características quantitativas (Coeficiente de correlação cofenética= 0,6) e, B – complemento aritmético do índice de Jaccard para análise dos dados binários (Coeficiente de correlação cofenética= 0,56).

Tabela 4 - Sequência de iniciadores ISSR e RAPD utilizados na análise de 32 progênes e respectivas temperaturas de anelamento (TM), total de alelos e número de alelos polimórficos

Nº do primer	Sequência (5'→ 3')	Alelos		Produto Min-max
		Total	Polimórficos	
Primers ISSR				
1	AC AC AC AC AC AC AC AC AC	3	0	1200-1400
2	GTC GTC GTC GTC GTC GTC	5	3	350-700
3	AGC AGC AGC AGC AGCY	6	1	500-1100
4	AGC AGC AGC AGC AGCAY	7	0	400-2000
5	CA CA CA CA CA CA CA CARG	3	0	500-1500
6	AGC AGC AGC AGC AGCGR	4	0	600-2500
7	CAGA CAGA CAGA CAGA	6	0	400-1000
8	CT CT CT CT CT CT CT CTCTC	5	1	500-1500
9	CT CT CT CT CT CT CT CTTG	2	0	1000-2000
10	AG AG AG AG AG AG AG AGYR	7	0	400-2000
11	CTC CTC CTC CTC CTC CTC	5	0	400-1000
12	GTC GTC GTC GTC GTC Y	4	1	400-800
13	GTG GTG GTG GTG GTGGR	6	0	500-1500
14	GA GA GA GA GA GA GA GA GAT	3	0	600-1500
15	GA GA GA GA GA GA GA GAYC	3	0	400-800
16	CA GA GA GA GA GA GA GA GA	7	1	300-1100
17	GC GA GA GA GA GA GA GA GA	7	4	300-1000
18	GGGTGGGGTGGGGTG	3	1	250-600
19	ATG ATG ATG ATG ATG ATGG	8	4	300-1500
20	AG AG AG AG AG AG AG AGYT	4	2	450-1000
Primers RAPD				
1	TCTGTGCTGG	7	1	450-1100
2	TGCGCCCTTC	4	1	500-2000
3	ACGGAAGCCC	4	0	550-1700
4	CCTGGGTCAG	4	0	450-1600
5	CTGTGTGCTC	7	3	400-1400
6	CACGAACCTC	2	1	400-550
7	TGAGCGGACA	5	2	250-1500
8	GTGTGCCCCA	6	1	250-1100
9	ACTGGGACTC	6	2	400-2500
10	ACCCGGTCAC	5	2	450-1500
11	GTGCAACGTG	4	3	400-750
12	TCTGGCGCAC	6	2	450-1300
13	GAGACGCACA	4	1	350-1400
14	GACCTACCAC	3	1	800-2000
15	GTAACCAGCC	7	0	350-2000
16	GGTGCACGTT	8	7	500-2000
17	CCCGTAGCAC	4	3	500-1000
18	CCCGTTGCCT	3	2	500-1000
19	GGGCCACTCA	7	2	400-1700
39		193	53	

Y: C ou T; R: A ou G

Considerando que as progênies derivadas de RC_1S_3 , RC_2S_2 e RC_3S_1 possuem em média 90,62%, 84,38% e 71,88% de endogamia, respectivamente, um baixo grau de heterogeneidade genética entre as progênies é um resultado esperado. No entanto, a amostragem genética feita em *bulk* na tentativa de obter maior representatividade alélica da família também pode ter contribuído para ocultar possíveis diferenças existentes entre os indivíduos.

De acordo com Eustice et al. (2008), o alto nível de diversidade fenotípica observada entre cultivares de mamão no campo não se correlaciona com o baixo nível de polimorfismo genético até agora elucidado. Talvez o fato de o melhoramento do mamoeiro ter sido realizado ao longo dos anos com um número limitado de genótipos pode ter contribuído para esta situação. Outra razão para a baixa variabilidade pode estar relacionado com as barreiras reprodutivas resultantes da incompatibilidade entre a espécie *C. papaya* L. e espécies pertencentes a outros gêneros da família, gerando um restrito *pool* gênico.

A dissimilaridade genética estimada a partir dos dados binários revelou que as famílias mais dissimilares foram $52RC_1-2-2S_3$ e $5IRC_3-S_1$, enquanto que os mais similares foram $RC_3(2)XSS72/12$ e $20RC_3-S_1$. Observa-se pela análise de agrupamento a alocação das 32 famílias avaliadas em sete grupos (Figura 1-B), com número de progênies por grupo variando de dois a nove. Com exceção dos grupos V e VII, os demais grupos reuniram progênies oriundas de duas gerações de retrocruzamento, havendo uma predominância de progênies derivadas de RC_1 nos grupos II e VI, e de RC_3 no grupo IV. Entre os grupos que apresentaram mistura de gerações, verifica-se que o grupo II (constituído por progênies do RC_1 e do RC_2) talvez seja o mais coerente com a genealogia dos materiais genéticos, visto que a única progênie representante do RC_2 foi originada a partir de uma planta selecionada em RC_1 , justificando a proximidade genética entre os mesmos.

Ao relacionar os grupos formados a partir da análise molecular com as características quantitativas, embora tenha havido grande variação dentro dos grupos para as variáveis analisadas, percebe-se que algumas delas apresentaram valores iguais ou muito próximos dentro dos agrupamentos formados, sendo as mais frequentes diâmetro do caule, diâmetro do fruto, frutos comerciais e nós sem fruto.

Apesar de as análises de agrupamento baseado em dados moleculares e morfoagronômicos terem apresentado o mesmo número de grupos, os perfis dos

mesmos foram consideravelmente diferentes. Tomando como base apenas os dois principais grupos formados em ambas as análises, verifica-se que 59,4% das progênies foram alocadas nos grupos de forma semelhante. Ao aumentar o número de grupos considerados, percebe-se que a semelhança no agrupamento reduz significativamente. As duas análises também diferem quanto à coerência entre os grupos formados e a genealogia das progênies. Nota-se que, embora ambos os agrupamentos não sejam 100% coerentes com genealogia, ou seja, não possibilitaram o agrupamento das progênies de acordo com a geração de retrocruzamento, a análise baseada nos dados quantitativos foi a que mais se aproximou do esperado.

Este resultado mostra que houve uma elevada discordância entre os agrupamentos gerados pelos dados contínuos e binários, o que pode ser confirmado pelo baixo valor encontrado para a correlação entre as duas matrizes ($r=0,04$). Isso indica que a distância genética estimada pelos marcadores moleculares não foi exatamente representativa da distância genética baseada nos caracteres quantitativos. Esse é um resultado que tem sido encontrado em alguns estudos de diversidade envolvendo a análise combinada de variáveis contínuas e discretas (Máric et al., 2004; Roy et al., 2004).

De acordo com Lefebvre et al. (2001), a relação entre distância molecular e fenotípica está proximamente relacionada à herança poligênica das características fenotípicas utilizadas nas análises, sendo que a magnitude do coeficiente de correlação entre esses dois tipos de dados depende da associação entre o loco marcador e o loco que controla a característica quantitativa (QTL). Segundo os autores, essa correlação necessariamente diminui à medida que aumenta o número de regiões genômicas envolvidas na variação da característica. Assim, tendo em vista o baixo valor da correlação entre as matrizes dos dados contínuos e binários encontrados no presente estudo, pode-se inferir que a associação entre o loco marcador e as características quantitativas analisadas é quase inexistente ou muito fraca, indicando que diferentes regiões genômicas podem estar sendo amostradas pelas diferentes variáveis.

Na análise combinada dos dados contínuos e binários os genótipos mais dissimilares encontrados foram RC₃(3)XSS72/12 e Segregante-S1, ao passo que os mais similares foram 19RC₃-S₁ e 22RC₃-S₁. O agrupamento gerado pelo

método UPGMA possibilitou a formação de seis grupos, considerando a distância média (0,38) como ponto de corte (Figura 2). O grupo I foi formado pelas testemunhas e pelos cruzamentos teste RC₃(2)XSS72/12 e RC₃(3)XSS72/12; o grupo II pela única progênie representante de RC₂; os grupos III e IV foram constituídos apenas por famílias oriundas de RC₁; o grupo V pela progênie 20RC₃- S₁; e o grupo VI pelas demais progênies derivadas de RC₃, além de Segregante-S1 e 16RC₁-37-6S₃. Em relação aos caracteres morfoagronômicos, os genótipos do grupo I apresentam em média maior produção e baixa firmeza, enquanto que no grupo III a produção é alta, mas apresenta maior uniformidade em relação ao grupo I. Alta produção também é encontrada entre integrantes do grupo VI, os quais se destacam também pelo maior peso e tamanho de fruto. Já nos grupos II e V, os genótipos são caracterizados por apresentar maior firmeza da polpa e da casca e maior teor de sólidos solúveis.

Verifica-se que a análise de dissimilaridade genética utilizando o algoritmo Gower apresentou maior coerência (cerca de 94%) na alocação das progênies nos diferentes grupos em relação aos agrupamentos considerando os dados contínuos e binários separadamente, o que pode ser confirmado pela dispersão gráfica baseada na análise da coordenada principal (PCA) apresentada na Figura 3. O coeficiente de correlação cofenética ($r=0,72$) indica que houve uma boa concordância entre a disposição gráfica da distância genética e a matriz original, resultado confirmado pela coincidência na indicação das progênies mais similares e dissimilares.

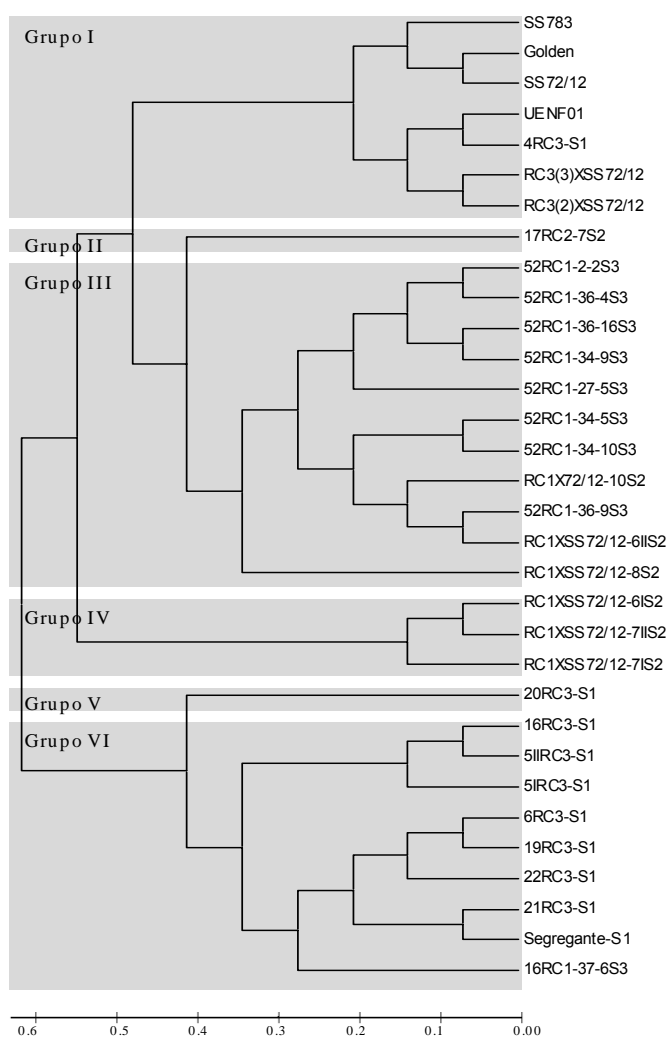


Figura 2 - Dendograma obtido pelo método Vizinho Mais Próximo baseado na análise de 32 famílias de mamão usando a distância de Gower para análise conjunta dos dados contínuos e binários (Coeficiente de correlação cofenética= 0,72).

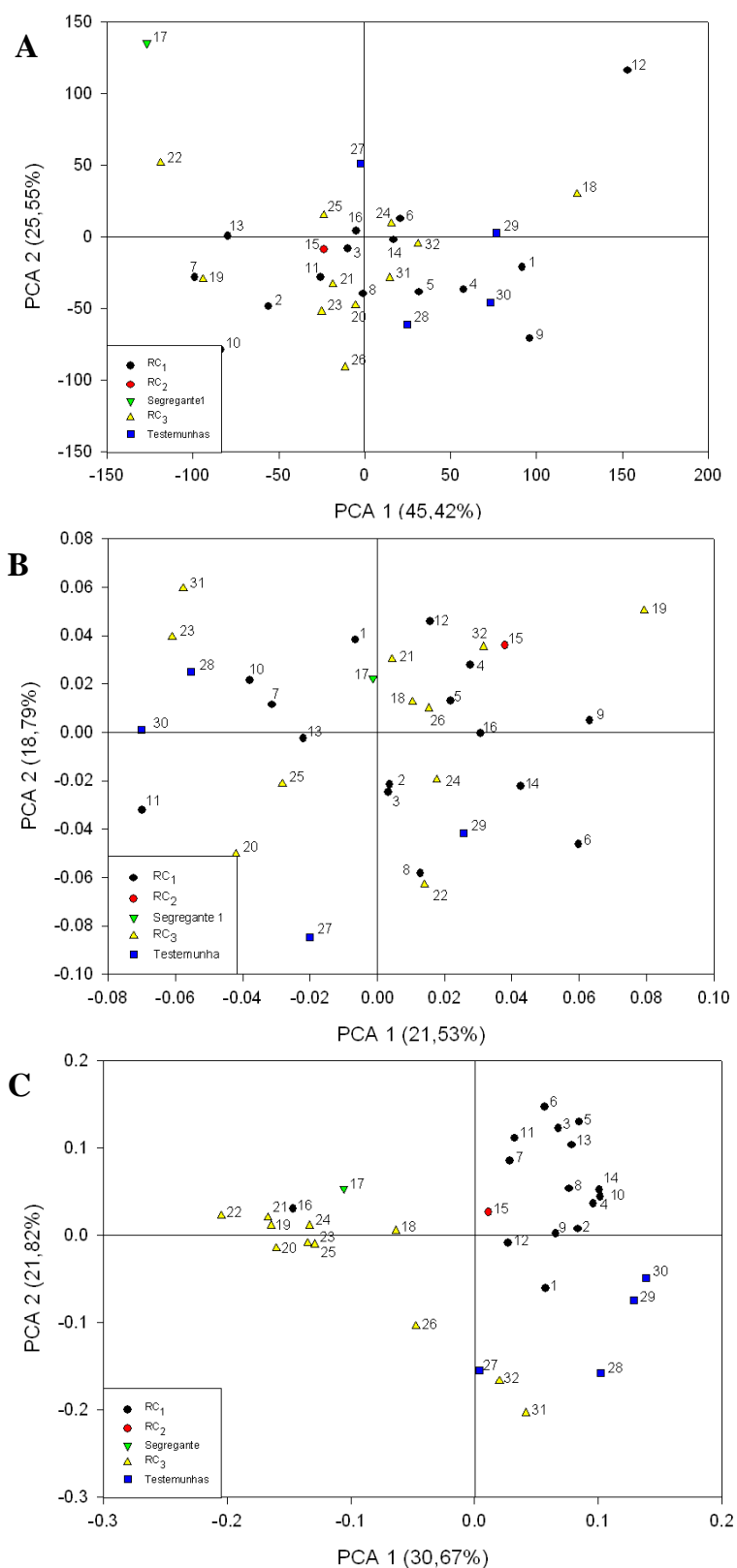


Figura 3 - Análise das Cordenadas Principais, considerando 28 progênies de mamão e quatro testemunhas, utilizando dados morfoagronômicos (A), moleculares (B) e a análise conjunta dos dados (C).

A verificação da associação entre as matrizes (Tabela 5) mostrou que a correlação entre a matriz conjunta (dados contínuos e dados binários) e a matriz de dados contínuos foi de 0,51 ao passo que a correlação entre a matriz conjunta e a matriz molecular foi de 0,04, indicando maior concordância com a matriz dos dados contínuos. Tal concordância pode ser verificada pela maior semelhança entre o agrupamento baseado na análise conjunta e baseado nos dados contínuos. Assim, percebe-se com estes resultados que no conjunto dos dados os contínuos tendem a contribuir com maior peso para a análise conjunta, talvez em função de ser um conjunto de atributos quantitativos com ampla representatividade genômica.

No entanto, os resultados obtidos no presente estudo têm sido diferentes daqueles encontrados em diversos trabalhos, e discordam do esperado principalmente devido ao grande número de marcadores moleculares utilizados nas análises. Exemplos podem ser encontrados em estudos realizados com tomate (Gonçalves et al., 2008) e trigo (Máric et al., 2004; Vieira et al., 2007; Bertan et al., 2009), onde maior coeficiente de correlação foi encontrado entre a análise conjunta e os dados moleculares. No entanto, ao realizar uma análise comparativa entre o grau de polimorfismo revelado pelos marcadores moleculares nos diferentes trabalhos, verifica-se que os valores variaram de 68% a 93,2% nos trabalhos citados acima, ao passo que no presente estudo esse nível de polimorfismo foi significativamente menor (27,5%), resultando em uma baixa correlação. Analisados em conjunto, esses dados permitem inferir que a maior associação entre a matriz baseada na análise conjunta e as matrizes individuais de dados moleculares e quantitativos depende do poder discriminante dos mesmos, e não do seu número. Nesse contexto, pode-se sugerir que se um maior grau de polimorfismo dos dados moleculares tivesse sido encontrado nesse estudo, uma maior correlação entre a matriz binária e conjunta poderia ter sido obtida.

Os resultados obtidos têm indicado que os diversos ciclos de seleção e a contínua endogamia causada pelas gerações de autofecundação na população avaliada já podem estar representando dificuldade para o uso dos marcadores moleculares com a finalidade de acessar a variabilidade genética. No entanto, verifica-se que o uso conjunto dos dados moleculares e quantitativos permite

Tabela 5 - Correlação entre matrizes de distância genética estimada a partir da análise de características morfoagronômicas, marcadores moleculares (ISSR e RAPD) e pela análise conjunta dos dados quantitativos e moleculares, em 32 progênes de mamão.

	Quantitativo	Molecular	Conjunto
Quantitativo	-	0,04*	0,51**
Molecular		-	0,04
Conjunto			-

** , * : Significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo test t, respectivamente.

agregar diferentes informações, contribuindo para uma adequada estimativa da dissimilaridade e uma melhor elucidação das relações genéticas dos materiais avaliados, levando a inferências mais consistentes em relação à distinção dos genótipos.

Diante da maior concordância entre as matrizes de distância genética e de agrupamento, bem como pela notável coerência na formação dos grupos, os resultados da análise conjunta foram utilizados como base para a indicação das famílias mais divergentes e agronomicamente superiores para o avanço de geração de autofecundação. Diversos estudos também têm utilizado a análise conjunta de variáveis contínuas, discretas e binárias para realizar inferências sobre a estrutura genética de populações de diversas culturas, tais como, tomate (Gonçalves et al., 2008), *Capsicum* spp. (Sudré et al., 2010), tomate cereja (Rocha et al., 2010), banana (Mattos et al., 2010), pimenta (Fonseca et al., 2008), entre outros.

Sendo assim, de acordo com a análise de agrupamento, as quatro progênes mais divergentes derivadas do RC₁ foram 52RC₁-34-5S₃, 16RC₁-37-6S₃, RC₁XSS72/12-10S₂ e RC₁XSS72/12-7IIS₂, as quais divergem principalmente quanto à altura da planta, altura do primeiro fruto, produção, sólidos solúveis e tamanho do fruto. No entanto, apesar de ser uma boa fonte de teor de sólidos solúveis, a RC₁XSS72/12-7IIS₂ apresenta a menor produção entre todas as progênes RC₁, além de ser a menos precoce, podendo esta ser substituída pela progênie RC₁XSS72/12-6S₂, que possui boa distância genética em relação aos

demais, produtividade mediana, porém com alto teor de sólidos solúveis, alta produção de frutos comerciais e baixa deformação de fruto. Entre as progênies do RC₃, maior dissimilaridade média foi encontrada em 20RC₃-S₁, 21RC₃-S₁, 6RC₃-S₁ e 4RC₃-S₁, divergindo principalmente para tamanho de fruto, sólidos solúveis e firmeza do fruto, apresentando elevada produção, exceto a progênie 20RC₃-S₁, que apresenta produção ligeiramente inferior à média, entretanto, é uma boa fonte de firmeza e sólidos solúveis. Apesar de ser a única representante da geração RC₂, a progênie 17RC₂-7S₂ desponta como promissora por apresentar uma boa distância média em relação às demais progênies avaliadas, além de possuir bons atributos agronômicos.

Nota-se entre os diversos estudos de diversidade genética que consideram diferentes fontes de dados certa divergência de opiniões a respeito do uso da análise conjunta para a discriminação de genótipos. 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 que a combinação dos dados moleculares e contínuos desponta como uma potencial ferramenta a ser empregada em estudos de dissimilaridade, não só para caracterização de germoplasma, como também para análise em geração avançada de melhoramento, possibilitando a realização de inferências mais acuradas e contribuindo para que seja mantida uma base genética adequada para o sucesso dos programas de melhoramento de diversas culturas.

3.1.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aradhya, M. K.; Manshardt, R. M.; Zee, F.; Morden, C. W. (1999) A phylogenetic analysis of the genus *Carica* L. (Caricaceae) based on restriction fragment length variation in a cpDNA spacer region. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 46: 579-586.

- Badillo, V. M. (2000) Carica L. vs Vasconcellea St. Hil. (Caricaceae) com La rehabilitacion de este ultimo. *Ernstia*, 10:74-79.
- 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.
- Costa, F. R.; Pereira, T. N. S.; Gabriel, A. P. C.; Pereira, M. G. (2010) ISSR markers for genetic relationships in Caricaceae and sex identification in papaya. *Biologia Plantarum* (no prelo).
- Crossa, J.; Franco, J. (2004) Statistical methods for classifying genotypes *Euphytica* 137: 19-37.
- Cruz, C. D. (2008) Programa GENES: Diversidade genética. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Daher, R. F.; Pereira, M. G.; Tupinamba, E. A.; Amaral Júnior, A. T.; Aragão, W. N.; Ribeiro, F. E.; Oliveira, L. O.; Sakiyama, N. S. (2002). Assessment of coconut tree genetic divergence by compound sample RAPD marker analysis. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 3: 431-438.
- Dinesh, M. R; Renha, A.; Ravishankar, K. V.; Praveen, K. S.; Santosh, L. C. (2007) Breaking the intergeneric crossing barrier in papaya using sucrose treatment. *Scientia Horticulturae*, 114:33-36.
- Doyle, J. J.; Doyle, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue (1990) *Focus* 12: 13-15.
- 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.

- Fonseca, R. M.; Lopes, R.; Barros, W. S.; Lopes, M. T. G.; Ferreira, F. M. (2008) Morphological Characterization and genetic diversity of *Capsicum chinense* Jacq. accessions along the upper Rio Negro – Amazonas. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 8: 187-194.
- Franco, F.; Crossa, J.; Ribaut, J. M.; Betran, J.; Warburton, M. L.; Khairallah, M. (2001) A method for combining molecular markers and phenotypic attributes for classifying plant genotypes. *Theoretical and Applied Genetic*, 103: 944-952.
- Gonçalves, L. S. A.; Rodrigues, R.; Amaral Júnior, A. T.; Karasawa, M.; Sudré, C. P. (2008) Comparison of multivariate statistical algorithms to cluster tomato heirloom accessions. *Genetics and Molecular Research* 7 (4): 1289-1297.
- Gower, J. C. (1971). General coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics* 27: 857-874.
- Jobin-Décor, M. P.; Graham, G. C.; Henr, R. J.; Drew R. A. (1997) RAPD and isozyme analysis of genetic relationships between *Carica papaya* and wild relatives. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 44: 471-477.
- 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.
- Kyndt, T.; Romeijn-Peeters, E.; Van Droogenbroeck, B.; Romero-Motochi, J.; Cheysen, G.; Goetghebeurs, P. (2005) Species Relationships in the genus *Vasconcellea* (Caricaceae) based on molecular and morphological evidence. *American Journal of Botany*, 6: 1033-1044.
- Lefebvre, V.; Goffinet, B.; Chauvet, J. C.; Caromel, B.; Signoret, P.; Brand, R.; Palloix, A. (2001) Evaluation of genetic distance between pepper inbred lines

for cultivar protection purposes: comparison of AFLP, RAPD and phenotypic data. *Theoretical and Applied Genetic*, 103: 741-750.

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.

Mattos, L. A.; Amorim, E. P.; Amorim V. B. O.; Cohen, K. O.; Ledo, C. A. S.; Silva, S. O. (2010) Agronomical and molecular characterization of banana germoplasm. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 45: 146-154.

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.

Ocampo, J.; D'Eeckenbrugge, G. C.; Bruyere, S.; Bellaire, L. L.; Ollitrault P. (2006) Organization of morphological and genetic diversity of Caribbean and Venezuelan papaya germoplasma. *Fruit*, 61:25-37.

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.

Parasnis, A. S.; Ramakrishna, W.; Chowdari, K. V. (1999) Microsatellite (GATA)_n reveals sex-specific differences in papaya. *Theoretical and Applied Genetic*, 99: 1047-1052.

Peakall, R.; Smouse, P. (2009) GenAIEx Tutorials – Part 1: Introduction to Population Genetic Analysis. Australian National University, Australia.

- Pérez, J. O.; Dambier, D.; Ollitrault, P.; D'Eeckenbrugge, G. C.; Brottier, P.; Froelicher, Y.; Risterucci, A-M. (2006) Microsatellite markers in *Carica papaya* L.: isolation, characterization and transferability to *Vasconcellea* species. *Molecular Ecology Notes*, 6: 212-217.
- R Development Core Team (2006) A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.
- 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.
- Rocha, M. C.; Gonçalves, L. S. A.; Rodeigues, R.; Silva, P. R. A.; Carmo, M. G. F.; Abboud, A. C. S (2010) Uso do algoritmo Gower na determinação da divergência genética entre acessos de tomateiro do grupo cereja. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 32: 423-431.
- Roy, J. K.; Lakshmikumaran, M. S.; Balyan, H. S.; Gupta, P. K. (2004) AFLP-based genetic diversity and its comparison with diversity based on SSR, SAMPL, and phenotypic traits in bread wheat. *Biochemical Genetics*, 42: 43-59.
- Saitou, N.; Nei, M. (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4: 406-425.
- SAS Institute INC. (1992) Statistical Analysis System. Release 6.12, (Software). Cary.
- Saxena, S.; Chandra, R.; Srivastava, A. P.; Mishra, M.; Pathak, R. K.; Ranade, S. A. (2005) Analysis of genetic diversity among papaya cultivars using Single Primer Amplification Reaction (SPAR) methods. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 80: 291-296.
- 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.; Viana, A. P.; Daher, R. F.; Ferregueti, G. A. (2008) Estimation of genetics parameters related of morpho-agronomic and fruit quality traits of papaya. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 8:65-73.

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

Sudré, C. P.; Gonçalves, L. S. A.; Amaral Júnior, A. T.; Riva-Souza, E. M.; Bento, C. S. (2010) Genetic variability in domesticated *Capsicum* spp. as assessed by morphological and agronomic data in mixed statistical analysis. *Genetic and Molecular Research*, 9: 283-294.

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.

Van Droogenbroeck, B.; Maertens, I.; Haegeman, A.; Kyndt, T.; O'Brien, C.; Drew, R. A.; Gheysen, G. (2005) Maternal inheritance of cytoplasmic organelles in intergeneric hybrids of *Carica papaya* L. and *Vasconcellea* spp. (*Caricaceae* Dumort., *Brassicales*). *Euphytica*, 143:161-168.

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.

Vitória, A. P.; Souza Filho, G. A. de; 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.

Williams, J. G.; Kubelik A. R.; Livak, K. J.; Rafalski, J. A. (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary *primers* are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*. 18: 6531-6535.

3.2. SELEÇÃO COMBINADA EM POPULAÇÃO DE MAMOEIRO (*C. PAPAYA* L.) UTILIZANDO A METODOLOGIA DOS MODELOS MISTOS

3.2.1. RESUMO

Diante da necessidade de direcionar esforços para a identificação e seleção de genótipos superiores e ampliar a base genética da cultura do mamoeiro, o presente trabalho objetivou aplicar o índice de seleção, bem como a seleção direta a partir da análise de dezesseis características morfoagronômicas, utilizando a metodologia dos modelos mistos, no intuito de identificar e selecionar genótipos agronomicamente superiores visando o desenvolvimento de futuras linhagens. Tais índices foram construídos tanto com base nos valores genéticos obtidos pela metodologia REML/BLUP, quanto pelos valores reais mensurados (fenotípicos). Os resultados da análise dos parâmetros genéticos indicam que as famílias avaliadas dispõem de variabilidade genética para as características consideradas, havendo possibilidades reais de progresso genético. Entre os índices analisados, o IG2, o qual considera o valor genético padronizado, apresentou maior coerência no ranqueamento dos materiais genéticos, evidenciando a vantagem da padronização dos dados. Entre as famílias selecionadas, cinco pertencente à geração RC₁ e cinco à geração RC₃. Os genótipos selecionados dentro de tais progênies, em média, apresentaram maiores valores de ganho e média predita do que as testemunhas para os seguintes caracteres: produção, firmeza da polpa e do fruto e sólidos solúveis.

Assim, foram recomendadas 27 plantas para o avanço de geração, sendo 23 selecionadas com base na seleção combinada e quatro utilizando a seleção direta para os quatro caracteres mencionados acima.

3.2.2. ABSTRACT

Faced with the need to direct efforts towards the identification and selection of superior genotypes and broaden the genetic basis of the papaya crop, this paper aims to apply the selection index and the direct selection from the analysis of sixteen agronomic characteristics using the mixed models in order to identify and select agronomically superior genotypes for the development of future inbreeding lines. These indexes were constructed either based on breeding values obtained by the methodology REML/BLUP, as measured by real values (phenotypic). The results of the analysis of genetic parameters indicate that the evaluated families have genetic variability for the traits considered, there are real possibilities of genetic progress. Among the indices analyzed, IG2, which considers the standard genetic value, showed greater consistency in the ranking of genotypes, demonstrating the advantage of data standardization. Among the selected families, five belong to BC₁ generation and five to BC₃ generation. The genotypes selected within such progeny, on mean, showed higher values of gain and the predicted mean that the best checks for the following characters: production, pulp and fruit firmness, and soluble solids. Thus, 27 plants have been recommended for the advancement of generation, with 23 selected based on the combined selection and four using the direct selection for the four characters mentioned above.

3.2.3. INTRODUÇÃO

Apesar da grande importância sócioeconômica e de ser uma das principais fruteiras fonte de divisas para o Brasil, uma restrita variabilidade genética tem sido

observada nos plantios comerciais do mamoeiro, em praticamente todas as regiões produtoras, refletindo o reduzido número de alternativas quanto à escolha de variedades comerciais. Parte desse problema seria solucionado se um número maior de estudos fosse direcionado à identificação e seleção de genótipos agronomicamente superiores a partir de populações segregantes. Programas de melhoramento genético dessa cultura têm sido conduzidos pela UENF na tentativa de mudar esse cenário (Marin et al., 2006; Silva et al., 2007, 2008; Damasceno Júnior et al., 2009; Ramos et al., 2011). O intuito principal é desenvolver materiais genéticos agronomicamente superiores que proporcionem boa rentabilidade para o produtor e que atendam à demanda tanto do mercado interno quanto externo.

A obtenção de materiais genéticos superiores, em qualquer programa de melhoramento genético, depende, necessariamente, de uma resposta favorável simultânea para diversas características de importância agrônômica, sendo a metodologia do índice de seleção o procedimento mais adequado por permitir selecionar genótipos com base em múltiplas características. Tal procedimento foi inicialmente proposto por Smith (1936) e Hazel (1943), e tem como finalidade a seleção de vários caracteres simultaneamente. Um grande número de índices de seleção estão disponíveis na literatura para serem empregados no melhoramento genético. Geralmente, esses índices são contruídos 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; Piepho et al., 2008), 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 primeiras aplicações dos modelos lineares mistos datam de mais de cinquenta anos atrás, sendo apresentada formalmente por Henderson (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).

Embora a metodologia REML/BLUP não seja tão extensivamente utilizada no melhoramento de plantas assim como é em animais, a sua aplicação tem se tornado cada vez mais comum na ciência agrônômica (Wolf et al., 2008). Os procedimentos analíticos dos modelos mistos tem ganhado ampla aplicação no melhoramento de espécies florestais e culturas perenes (Costa et al., 2002; Resende, 2002a), por se tratar de um procedimento estimativo, especialmente para dados desbalanceados, e por permitir a análise de características de baixa herdabilidade (Resende e Fernandes, 1999). Entretanto, essa aplicação é menos frequente em culturas anuais (Piepho et al., 2008; Chiorato et al., 2008).

De acordo com o exposto no presente trabalho, teve-se por objetivo: i) estimar parâmetros genéticos e obter o valor genético para as características avaliadas utilizando a metodologia dos modelos mistos; ii) aplicar a metodologia da seleção combinada, bem como a seleção direta baseada tanto no valor fenotípico como no valor genético padronizado e não padronizado; iii) comparar a eficiência da seleção utilizando tais índices; e iv) realizar a seleção das melhores progênies e, dentro destas, os melhores genótipos para o avanço de geração no programa de melhoramento genético do mamoeiro da UENF.

3.2.4. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.4.1. Material genético

Foram avaliadas plantas hermafroditas em 32 progênies. Dessas, 26 são famílias derivadas de retrocruzamento (RC), sendo dezesseis progênies derivadas da primeira geração (RC₁), uma da segunda (RC₂) e nove da terceira geração (RC₃) de cruzamento recorrente com o genitor Cariflora. Os demais tratamentos consistem em testemunhas (Golden, SS783 - genitor doador do

hermafroditismo, SS72/12, UENF/Caliman 01, RC₃(2)XSS72/12 e RC₃(3)XSS72/12), incluídos no estudo para efeito comparativo com as gerações segregantes.

3.2.4.2. Local de condução do experimento

O ensaio foi instalado em fevereiro de 2008 na área comercial da empresa Caliman Agrícola S/A, Fazenda Romana, localizada no município de Linhares (19°23'28" de latitude sul e 40°04'20" de longitude oeste, altitude=33 metros), no Estado do Espírito Santo. Foi utilizado o delineamento em blocos ao acaso com duas repetições, composto por 32 tratamentos e parcelas de 15 plantas, com espaçamento de 3,60 m entre fileira e de 1,80 m entre plantas na fileira.

Devido a uma taxa de segregação entre plantas hermafroditas e femininas de 2:1 gerada pela autofecundação, o número de genótipos avaliados foi inferior ao total de plantas do experimento. Assim, as avaliações iniciaram com mensuração de características morfoagronômicas em 580 plantas hermafroditas. No entanto, devido à perda de plantas pela incidência de doenças, as avaliações foram concluídas em 360 plantas hermafroditas, sendo estas utilizadas nas análises realizadas nesse estudo.

As adubações, o manejo, 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 avaliadas

Para a predição dos valores genéticos foram avaliados dezesseis caracteres morfoagronômicos aos 150, 240 e 270 dias após o transplante, conforme demonstrado por Silva et al. (2008), com acréscimo de dois caracteres, sendo eles: i) Número de nós sem fruto - NNSFr: determinado pela contagem de nós onde não houve desenvolvimento de fruto (devido ao aborto da flor ou à reversão sexual) e; ii) Espessura da polpa - EP (cm): determinada pela média de duas medidas (espessura maior e menor) após corte transversal do fruto.

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 estimadas 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 é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). As letras maiúsculas (X , Z e W) representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

Dado que o material genético utilizado nesse estudo é derivado basicamente de autofecundação, as análises foram realizadas utilizando o modelo estatístico 59 do *software* Selegen, 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. No entanto, é importante salientar que apenas 32% das progênies avaliadas correspondem 100% às condições desse modelo.

3.2.4.5. Índice de seleção

A seleção combinada das dezesseis características foi efetuada estabelecendo-se pesos associados aos valores agronômicos, como descritos a seguir: AP (1), AIPF (-10), DC (5), NFrT (50), NFrC (-20), NFrP (-20), NNSFr (-20), NFrCo (100), PM (1), PROD (100), SS (100), FE (100), FI (100), DIAM (1), COMP (1) e EP (70). Esta relação de pesos foi estabelecida experimentalmente, baseada na importância das características avaliadas a nível agronômico, assim como sugere Silva et al. (2008).

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 progênes superiores. Para tanto, os valores genéticos e fenotípicos (padronizados e originais) foram multiplicados pelos pesos agrônômicos descritos acima e os resultados comparados para verificar o grau de coincidência entre tais metodologias e a eficiência desses índices em indicar materiais genéticos superiores. Os índices utilizados foram construídos como descrito a seguir:

$$IG1 = (VG_1 \times p_1) + (VG_2 \times p_2) + \dots + (VG_n \times p_n)$$

$$IG2 = (VG_{t1} \times p_1) + (VG_{t2} \times p_2) + \dots + (VG_{tn} \times p_n)$$

$$IF1 = (VF_1 \times p_1) + (VF_2 \times p_2) + \dots + (VF_n \times p_n)$$

$$IF2 = (VF_{t1} \times p_1) + (VF_{t2} \times p_2) + \dots + (VF_{tn} \times p_n)$$

Em que, VG é o valor genotípico predito, VF é o valor fenotípico ou valor mensurado, p é o peso agrônômico estabelecido para cada variável e VGt e VFt são os valores genotípicos e fenotípicos padronizados utilizando a seguinte equação: $(Xg - \bar{X}g)/S\bar{X}g$, onde Xg é o valor mensurado no indivíduo para a variável x, $\bar{X}g$ é a média geral da variável, e $S\bar{X}g$ é o desvio padrão.

Para a identificação das melhores famílias, dois adicionais índices foram utilizados, a saber, o índice multiplicativo (IM) (Subandi et al., 1973), e com base na soma do rank (ISR) (Mulamba & Mock, 1978), como apresentados a seguir:

$$IM = (VG \times V_1) \times (VG \times V_2) \times \dots \times (VG \times V_n)$$

$$ISR = (r \times VG \times V_1) + (r \times VG \times V_2) + \dots + (r \times VG \times V_n)$$

Em que, VG é o valor genotípico predito e r é o posto em que o genótipo se apresenta no rank.

Os procedimentos necessários para construção dos índices de seleção foram realizados pelo software Selegen REML/BLUP (Resende, 2002b) e pelo Microsoft office Excel 2007. Foi praticada uma intensidade de seleção de 30% para a indicação das melhores progênes, e de 25% para a seleção dos genótipos superiores dentro das progênie selecionadas.

3.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 encontram-se os parâmetros genéticos estimados para as características avaliadas nesse estudo, bem como as médias genotípicas. Com base nas estimativas do coeficiente de variação genotípica individual ($CV_{gi}\%$), que expressam em percentagem da média geral a quantidade de variação genética existente, observaram-se valores variando de baixo a alto (4,96 a 90,83). Exceto para as variáveis AP, DC, SS, FE, DIAM e EP que apresentaram baixos valores de CV_{gi} , as demais características avaliadas apresentaram valores variando de moderado a alto (10,29 a 90,83). Isso mostra que apesar da população já ter passado por vários ciclos de seleção, continua apropriada para o melhoramento genético, ou seja, podem ser obtidos progressos genéticos com a adoção de procedimentos de seleção apropriados. A maior variação genética foi observada para frutos pentândricos (90,83), evidenciando a possibilidade de seleção de genótipos com menor expressão desse tipo de anomalia do fruto. Por outro lado, um discreto progresso genético é esperado para firmeza do fruto, tendo em vista a baixa variação observada entre as famílias avaliadas (4,96).

As estimativas do coeficiente de variação residual ($CV_e\%$) variaram de 6,48 a 109,82. De maneira geral, podemos inferir que os valores de CV_e se mantiveram em níveis aceitáveis para a experimentação de campo, exceto para frutos carpelóides (46,72), pentândricos (109,82) e firmeza da polpa (54,37). Os altos valores apresentados são indicativos de baixa acurácia e de menor precisão experimental. Altos valores de CV_e também tem sido associado a 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 (Ferrão et al., 2008).

A magnitude da relação entre o CV_g e CV_e permite inferir sobre a acurácia e a avaliação genotípica. Assim, o coeficiente de variação relativa ($CV_r=CV_g/CV_e$) apresentou valores variando de 0,55 (DIAM) a 0,94 (EP). Vencovsky (1987) reporta que valores de CV_r em torno da unidade são adequados para a experimentação em milho. Esse fato é confirmado por Resende e Duarte (2007), o qual relata que valores de CV_r iguais a 1,0 são adequados por propiciar inferências com acurácias e precisões altas e muito altas. No presente estudo não se observou valores de CV_r iguais a unidade, entretanto, para as variáveis AP, AIPF, NFrT, NFrCo, PM, SS e EP, os valores encontram-se bem próximos à unidade, o que pode ser considerado uma situação favorável à obtenção de

sucesso com a seleção. De acordo com Resende e Duarte (2007), a conclusão sobre valores adequados ou não de CV_r deve ser inferido em conjunto com o número de repetições, uma vez que a mesma está diretamente relacionada a acurácia experimental.

De acordo com Resende (2007), a qualidade da avaliação genotípica deve ser inferida preferencialmente com base na acurácia. Esse parâmetro refere-se à correlação entre o valor genotípico verdadeiro do material genético e aquele estimado ou predito a partir das informações dos experimentos de campo, sendo tanto mais alto quanto menores forem os desvios absolutos entre esses valores. Em nosso estudo, os valores de acurácia variaram de 0,62 a 0,80, sendo consideradas altas, exceto para firmeza da polpa (0,66) e diâmetro do fruto (0,62). Em estudos realizados com o objetivo de associar valores alternativos de coeficiente de variação à acurácias, Resende e Duarte (2007) verificaram que dados obtidos a partir de experimentos com duas a quatro repetições provavelmente não permitirão atingir os valores de acurácia desejáveis, ou seja, acima de 90%. Segundo os autores, nessa situação (baixo número de repetição), acurácia acima de 90% só é possível para caracteres com alta herdabilidade, o que é pouco provável de se encontrar, dada a natureza quantitativa e a baixa herdabilidade dos principais caracteres de interesse no melhoramento.

Tabela 1 – Estimativa de parâmetros genéticos estimados para as 16 características avaliadas via procedimento REML/BLUP, utilizando dados individuais

Características	Parâmetros										
	Va	Vf	h ² a	h ² aj	c ² prc	h ² mp	Acprog	CVgi%	CVe%	CVr	Média
AP	198,13	976,93	0,20 +- 0,07	0,25	0,20	0,62	0,79	6,90	7,54	0,91	204,07
AIPF	122,05	536,58	0,22 +- 0,02	0,29	0,23	0,63	0,79	10,91	11,75	0,93	101,21
DC	4,30	35,11	0,12 +- 0,05	0,14	0,12	0,59	0,76	5,81	6,90	0,84	35,72
NFrT	50,10	289,72	0,17 +- 0,06	0,21	0,17	0,61	0,78	21,06	23,56	0,90	33,61
NFrC	0,84	7,19	0,12 +- 0,05	0,13	0,12	0,58	0,76	39,00	46,72	0,83	2,35
NFrP	1,02	9,15	0,11 +- 0,05	0,13	0,11	0,58	0,76	90,83	109,82	0,83	1,11
NNSFr	10,20	77,56	0,13 +- 0,05	0,15	0,13	0,59	0,77	19,27	22,59	0,85	16,57
NFrCo	51,17	269,04	0,19 +- 0,06	0,23	0,19	0,62	0,79	23,71	26,16	0,91	30,17
PM	18644,30	100312,18	0,18 +- 0,06	0,23	0,18	0,62	0,78	19,31	21,38	0,90	706,93
PROD	9262763,71	*****	0,07 +- 0,04	0,08	0,07	0,53	0,73	15,58	20,65	0,75	19533,93
SS	0,54	2,48	0,22 +- 0,07	0,28	0,22	0,63	0,79	6,48	7,01	0,92	11,36
FE	28,20	357,10	0,08 +- 0,05	0,08	0,08	0,54	0,73	4,96	6,48	0,77	107,13
FI	74,30	2337,01	0,03 +- 0,03	0,03	0,03	0,44	0,63	11,10	19,56	0,60	77,63
DIAM	0,40	14,53	0,03 +- 0,02	0,03	0,03	0,38	0,62	6,30	11,39	0,55	10,08
COMP	2,90	27,92	0,10 +- 0,05	0,12	0,10	0,57	0,75	10,29	12,64	0,81	16,55
EP	0,03	0,13	0,26 +- 0,07	0,34	0,26	0,64	0,80	7,67	8,14	0,94	2,41

Va: variância genética entre famílias, equivalendo a variância genética aditiva mais (1/4) da variância genética de dominância; Vf: variância fenotípica individual; h²a = h²: herdabilidade individual no sentido amplo entre famílias; h²aj: herdabilidade individual no sentido amplo entre famílias, ajustada para os efeitos de parcela; c²prc = c²: coeficiente de determinação dos efeitos de parcela; h²mp: herdabilidade da média de progênies; Acprog: acurácia da seleção de progênies; CVgi%: coeficiente de variação genética aditiva individual; CVe%: coeficiente de variação residual; CVr: coeficiente de variação relativa (CVgi/CVe).

As estimativas da herdabilidade individual no sentido amplo (h^2_a) foram consideradas baixas para todas as variáveis avaliadas. Os maiores valores para h^2_a foram observados para altura da planta, altura do primeiro fruto, frutos comerciais, sólidos solúveis e espessura da polpa, ao passo que os menores foram observados para produção, firmeza do fruto e da polpa e diâmetro do fruto. Os desvios-padrão em torno de cada estimativa de h^2_a variaram de baixos a moderados. De acordo com Pedrozo et al. (2008), essa magnitude de desvio-padrão revela que as herdabilidades estimadas são estatisticamente diferentes de zero.

Uma possível causa para as baixas estimativas da herdabilidade é a base genética estreita da população, haja vista que as progênies são provenientes de um cruzamento inicial de dois genitores, além de encontrarem-se na primeira, segunda e terceira geração de autofecundação. Há que considerar, ainda, que em gerações anteriores foi praticada seleção, contribuindo para uma redução da variabilidade genéticas disponível na presente geração. Ou seja, a cada ciclo de avanço de gerações, com a prática da seleção vão permanecendo apenas os genótipos superiores. Mas, mesmo assim, observam-se ainda possibilidades reais de progresso genético.

Ao considerar a herdabilidade em nível de média de famílias (h^2_{mp}), observam-se magnitudes significativamente superiores, ocorrendo em média valores até quatro vezes maiores do que a herdabilidade individual. Costa et al. (2002) salientam que nessa situação a seleção pode ser mais efetiva utilizando-se as informações das famílias. As maiores estimativas para h^2_{mp} foram observadas para altura da planta, altura do primeiro fruto, frutos comerciais, peso médio, sólidos solúveis e espessura da polpa, ao passo que os menores valores foram observados para firmeza da polpa e diâmetro do fruto. 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.

Os coeficientes de coincidências no ranqueamento das famílias pelo Índice Multiplicativo (IM), Índice da Soma dos Ranks (ISR), Índice Genotípico (IG1), Índice Genotípico Padronizado (IG2), Índice Fenotípico (IF1) e Índice Fenotípico Padronizado (IF2), além da seleção direta para produção por planta, exercendo

uma pressão de seleção de 30% foi comparada e sua eficiência analisada (Tabela 2). Ao considerar apenas a coincidência entre os índices, verifica-se que estes coeficientes variaram de baixo a alto. Tendo em vista que o coeficiente de coincidência revela a concordância do resultado da seleção entre índices, nota-se que a menor concordância foi verificada entre IM e ISR (0,2), ao passo que a maior foi apresentada por IG1 e IF1 (1,0), mostrando que os dois últimos índices indicaram as mesmas progênes como superiores.

De maneira geral, o Índice Multiplicativo (IM) não se mostrou coerente ao ranquear as famílias com base em todos os caracteres avaliados, o que o qualifica como uma estratégia pouco adequada a ser empregada na seleção de materiais genéticos superiores. O ISR apresentou maior consistência na seleção do que o IM, porém, deixou de selecionar algumas progênes potenciais. Os índices IG1 e IF1 mostraram moderada coerência dado que o ordenamento das melhores progênes foi, de maneira geral, baseada no número de frutos comerciais e na produção. Sendo assim, algumas progênes selecionadas não apresentaram valores favoráveis para as demais características avaliadas. Essa situação não é desejável no melhoramento do mamoeiro dado que a produção não é a única característica de interesse, ou seja, um material genético considerado superior é aquele que apresenta um bom rendimento somado à boa qualidade do fruto, além de outras características relevantes. Nesse sentido, os índices IG2 e IF2 foram os mais coerentes, visto que permitiram a indicação de progênes que, além de produtivas, apresentaram valores satisfatórios para teor de sólidos solúveis, firmeza e deformação de frutos, por exemplo, evitando o efeito de escala. Tais índices apresentaram alta concordância na seleção (0,9), o mesmo ocorrendo entre estes e o ISR, porém em uma magnitude menor (0,8). A alta concordância encontrada entre os índices IG1 e IF1 e entre o IG2 e IF2 corroboram os valores de acurácia encontrados nesse estudo.

Tabela 2 - Coeficiente de coincidência entre cinco índices de seleção, além da seleção direta para PROD, empregadas para identificação das melhores famílias, considerando uma pressão de seleção de 30%

	ISR	IG1	IG2	IF1	IF2	PROD
IM	0,20	0,50	0,40	0,50	0,40	0,50
ISR	-	0,50	0,80	0,50	0,80	0,50
IG1		-	0,50	1,00	0,50	1,00
IG2			-	0,50	0,90	0,60
IF1				-	0,50	1,00
IF2					-	0,50

ISR: índice da soma do rank; IM: índice multiplicativo; IG1: índice genotípico; IG2: índice genotípico com valores padronizados; IF1: índice fenotípico; IF2: índice fenotípico com valores padronizados.

Ao analisar a eficiência dos índices IM, ISR e do índice clássico (IC) na seleção de genótipos superiores de cana-de-açúcar utilizando a metodologia REML/BLUP, Pedrozo et al. (2008) verificam que o IM foi o mais eficiente na seleção por apresentar maior ganho indireto para produção de BRIX por hectare (TBH), uma das principais características no melhoramento dessa cultura. Considerando apenas os índices IM e ISR, verifica-se que no presente estudo o ISR apresentou maior eficiência, fato corroborado pela maior concordância na seleção entre este e os índices IG2 e IF2. Talvez a discordância entre os dois trabalhos esteja nos resultados pretendidos, ou seja, em nosso estudo buscou-se selecionar genótipos com superioridade satisfatória para vários caracteres, e não apenas para uma característica principal. Isso evidencia que, além da estrutura genética dos materiais analisados, a eficiência dos métodos de seleção depende do objetivo do programa de melhoramento.

Além da concordância na seleção entre os índices, também foi analisado a concordância desses com a seleção direta para produção. Verifica-se que o maior coeficiente de coincidência foi apresentado pelos índices IG1 e IF1(1,0), ao passo que entre os demais índices esse coeficiente foi apenas mediano (0,5 a 0,6). Esse resultado está de acordo com o esperado, visto que a seleção com os índices IG1 e IF1 foi baseada na produção, ao passo que os demais índices contemplam outros atributos de interesse. Isso demonstra que ao utilizar os dados originais

para compor um índice, a característica de maior valor fenotípico exerce maior peso na seleção, sendo no presente estudo produção a característica de maior valor mensurado.

Embora tenha sido encontrada uma alta concordância entre os índices IG2 e IF2, optou-se por utilizar apenas as informações do primeiro para efetuar a seleção, visto que o mesmo provê estimativas livres dos efeitos ambientais e prediz os ganhos e as novas médias do material selecionado. Assim, com base no IG2, verifica-se que as dez progênies superiores indicadas apresentam ganhos variando de 6,08 a 16,86% para produção, de 0,53 a 9,24% para sólidos solúveis, de 1,46 a 4,65% para firmeza do fruto e de 1,50 a 8,12% para firmeza da polpa, valores considerados satisfatórios, tendo em vista os ganhos médios verificados para cada característica (Tabela 3). Os maiores ganhos médios foram observados para produção, sendo previstos aumentos das médias de 11,03%, 3,90%, 2,64% e 5,13% para as variáveis PROD, SS, FE e FI, respectivamente.

Os índices também foram utilizados no presente estudo para seleção dos genótipos superiores dentro das melhores progênies. No entanto, nessa etapa foram utilizados apenas os índices IG1, IG2, IF1 e IF2, visto que os índices IM e ISR (obtidos pela metodologia REML/BLUP) permitem apenas a seleção de progênies. Considerando uma pressão de seleção de 25%, de maneira geral, os resultados referentes à concordância entre as estratégias de seleção foram semelhantes aos obtidos quando considerado a seleção das melhores progênies. Nota-se uma variação do nível de concordância entre os diferentes índices de

Tabela 3 - Ganhos genéticos e novas médias preditas em quatro características de grande importância no melhoramento do mamoeiro para as famílias selecionadas pelo índice IG2

Famílias	PROD		SS		FE		FI	
	G _s (%)	\bar{X}_s	G _s (%)	\bar{X}_s	G _s (%)	\bar{X}_s	G _s (%)	\bar{X}_s
1	5,26	20562,29	9,24	12,41	2,53	109,84	5,09	81,58
2	13,73	22216,29	0,9	11,46	2,32	109,61	6,98	83,05
4	9,6	21409,61	2,82	11,68	2,01	109,27	1,97	79,17
6	16,86	22826,73	0,53	11,42	1,89	109,16	3,81	80,59
9	11,02	20639,84	6,46	12,09	4,65	112,11	7,80	83,71
18	6,08	20809,11	7,48	12,21	3,49	110,86	7,51	83,46
19	16,85	22824,71	2,64	11,65	2,64	109,95	8,12	83,93
20	14,38	22342,49	3,87	11,79	1,46	108,69	6,02	82,30
22	6,94	20889,95	2,38	11,63	2,44	109,73	1,50	78,80
26	14,98	22460,34	2,2	11,61	3,03	110,38	2,46	79,54
Média	11,57	21698,14	3,85	11,80	2,65	109,96	5,13	81,61

G_s: ganho com a seleção; G_s(%): ganho em percentagem; \bar{X}_s : nova média das progênes selecionadas

seleção nas progênes avaliadas, evidenciando que a coincidência na seleção depende significativamente da constituição genética dos indivíduos avaliados, assim como descrito por Pedrozo et al. (2009).

Ao considerar a seleção dos genótipos superiores dentro das melhores progênes (Tabela 4), verifica-se um ligeiro aumento dos ganhos preditos na seleção dos genótipos em relação à análise baseada na média das progênes, considerando os quatro caracteres de maior interesse no melhoramento do mamoeiro (PROD, SS, FE e FI). Isso evidencia a presença de significativa variabilidade dentro das progênes, o que possibilita a obtenção de progresso genético com a seleção. Em média, maior ganho predito foi observado para produção (14,2%), seguido por firmeza da polpa (5,3%), sólidos solúveis (5,3%) e firmeza do fruto (3,1%). Tais valores foram duas vezes maiores do que a média das testemunhas para produção, firmeza da polpa e do fruto, sendo apenas

Tabela 4 - Ganhos genéticos e novas médias previstas para quatro características de grande importância no melhoramento do mamoeiro, considerando os genótipos selecionados dentro das famílias superiores

Nº	Progênie	Plt	PROD			SS			FE			FI		
			G _s	G _s (%)	\bar{X}_s	G _s	G _s (%)	\bar{X}_s	G _s	G _s (%)	\bar{X}_s	G _s	G _s (%)	\bar{X}_s
1	1	5	1903,2	9,7	21437,2	1,2	10,5	12,6	3,2	3,0	110,3	4,3	5,5	81,9
2	1	1 ^I	1572,4	8,1	21106,4	1,1	9,6	12,5	3,8	3,5	110,9	4,6	5,9	82,2
3	1	8	1220,9	6,3	20754,8	1,4	12,3	12,8	2,7	2,5	109,8	4,2	5,4	81,8
4	1	1 ^{II}	1299,6	6,6	20833,5	1,2	10,5	12,5	2,8	2,6	109,9	4,2	5,4	81,9
5	2	7	2929,6	15,0	22463,5	0,3	2,6	11,6	2,5	2,3	109,6	4,6	5,9	82,2
6	2	6	3280,3	16,8	22814,3	0,2	1,7	11,5	2,6	2,4	109,7	5,8	7,5	83,5
7	4	8	2689,4	13,8	22223,4	0,4	3,5	11,7	2,4	2,3	109,5	1,3	1,7	78,9
8	4	6	2288,3	11,7	21822,2	0,3	2,6	11,6	1,9	1,8	109,0	1,7	2,2	79,4
9	6	3	3901,7	20,0	23435,6	0,1	0,9	11,5	2,4	2,3	109,5	3,5	4,5	81,1
10	6	1	4155,5	21,3	23689,4	0,1	0,9	11,4	2,6	2,4	109,7	2,4	3,1	80,1
11	6	9	3805,5	19,5	23339,5	0,1	0,9	11,5	3,2	3,0	110,3	3,7	4,8	81,3
12	6	6	3986,1	20,4	23520,1	0,2	1,7	11,5	2,3	2,2	109,4	3,4	4,4	81,1
13	9	1	1833,2	9,4	21367,1	1,1	9,6	12,4	5,4	5,1	112,5	6,6	8,5	84,2
14	9	3 ^I	2274,7	11,6	21808,6	0,8	7,0	12,2	6,2	5,8	113,3	6,9	8,9	84,5
15	9	3 ^{II}	1721,5	8,8	21255,4	0,8	7,0	12,1	6,7	6,3	113,9	6,9	8,9	84,6
16	18	8	1868,0	9,6	21401,9	1,1	9,6	12,4	4,7	4,4	111,9	6,4	8,3	84,1
17	19	6	5074,8	26,0	24608,7	0,3	2,6	11,6	3,4	3,2	110,5	7,1	9,2	84,7
18	19	10	3518,3	18,0	23052,2	1,1	9,6	12,4	3,3	3,1	110,4	6,9	8,9	84,5
19	20	2	3618,1	18,5	23152,1	0,7	6,2	12,1	2,1	2,0	109,2	5,3	6,8	82,9
20	20	1	3833,8	19,6	23367,7	0,3	2,6	11,6	2,2	2,1	109,3	5,3	6,8	82,9
21	22	2	1169,4	6,0	20703,3	0,7	6,2	12,1	3,5	3,3	110,6	1,2	1,5	78,9
22	22	10	2261,2	11,6	21795,2	0,2	1,7	11,6	3,8	3,5	110,9	1,2	1,5	78,8
23	26	6	3555,9	18,2	23089,9	0,3	2,6	11,6	3,7	3,4	110,8	1,8	2,3	79,4
Média			2772,2	14,2	22306,2	0,6	5,3	11,9	3,4	3,1	110,5	4,3	5,6	82,0

^I: planta selecionada na repetição 1; ^{II}: planta selecionada na repetição 2; G_s: ganho com a seleção; G_s(%): ganho em percentagem; \bar{X}_s : nova média dos indivíduos selecionados

ligeiramente maior para sólidos solúveis. Verifica-se, ainda, que, dos genótipos selecionados, 43,5, 30,4, 52,2 e 39,1% apresentaram ganhos preditos maiores do que a melhor testemunha para PROD, SS, FE e FI, respectivamente.

Esta metodologia proporciona o ordenamento dos genótipos potenciais para seleção, explorando toda a variação genotípica entre e dentro de progênies (Resende, 2007), porém, considerando cada variável analisada separadamente. Esse procedimento tem se mostrado eficiente em estudos realizados com feijão (Chiorato et al., 2008), seringueira (Costa et al., 2008a, 2008b), cana-de-açúcar (Resende e Barbosa, 2006), acerola (Paiva et al., 2002), no entanto, mostra-se inviável para a seleção de genótipos promissores para vários atributos simultaneamente. Isso justifica o intento proposto neste trabalho de utilizar os valores genotípicos para construção de índices, possibilitando a viabilização de novas estratégias de seleção de genótipos superiores.

Além dos genótipos selecionados utilizando a seleção combinada, foi realizada também a seleção direta para PROD, SS, FE e FI, com o intuito de manter na população de melhoramento genótipos fonte de produção, teor de sólidos solúveis totais e firmeza interna e externa. Assim, a Tabela 5 apresenta os ganhos e as novas médias preditas para a seleção do genótipo superior para cada característica citada acima. Verifica-se que os ganhos preditos foram significativamente maiores àqueles considerando a seleção combinada, estando de acordo com o esperado. Silva et al.(2008) aplicaram o índice de seleção combinado considerando seis características morfoagronômicas e a seleção direta para produção/planta, na seleção de genótipos em população segregantes de mamão. Ao comparar as duas estratégias de seleção utilizadas, os resultados indicaram maiores ganhos para seleção direta. No entanto, os autores ressaltam que, apesar do menor ganho, a seleção combinada gera uma maior expectativa de êxito nas próximas gerações por considerar variáveis agrônômicas favoráveis e desfavoráveis à cultura do mamoeiro.

De acordo com os resultados apresentados, considerando o propósito da seleção simultânea, o índice IG2 apresentou maior coerência tanto na indicação das melhores progênies quanto na identificação de genótipos potenciais para compor a próxima geração de melhoramento. Isso evidencia a vantagem na adoção da

Tabela 5 - Seleção direta para quatro características de importância agrônômica para o melhoramento do mamoeiro

Variáveis	Família	Plt	a	VG	G _s	G _s (%)	\bar{X}_s
PROD	19	5	5074,8	24608,8	5074,8	26,0	24608,8
SS	15	9	1,7	13,0	1,7	15,0	13,0
FE	15	10	7,1	114,2	7,1	6,6	114,2
FI	12	3	7,8	85,48	7,8	10,1	85,48

a: valor aditivo; VG: valor genético; G_s: ganho com a seleção; G_s(%): ganho em percentagem; \bar{X}_s : nova média dos indivíduos selecionados

padronização dos dados e dos valores genéticos na avaliação e seleção de genótipos superiores. Assim, fica evidente que o uso desta estratégia pode possibilitar maior precisão no processo de seleção, aumentando a chance de sucesso nos programas de melhoramento.

Com base no índice genético padronizado, foram então selecionadas 27 plantas para o avanço de geração, sendo 23 selecionadas dentro das progênies superiores com base na seleção combinada e quatro utilizando a seleção direta para PROD, SS, FE e FI. No entanto, é importante salientar que os parâmetros genéticos estimados, bem como a eficiência dos índices utilizados na seleção é um caráter inerente da população trabalhada e às condições experimentais estabelecidas no presente estudo.

3.2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves, F. M.; Resende, M. D. V. (2008) Avaliação genética de indivíduos e progênies 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*, Viçosa, v.2, n.4, p.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*, v. 62, 10-15.
- Falconer, D. S. (1987) *Introdução à genética quantitativa*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.
- Ferrão, R. G.; Cruz, C. D.; Ferreira, A.; Cecon P. R.; Ferrão, M. A. G.; Fonseca, A. F. A.; Carneiro, P. C. S.; Silva, M. F. (2008) Parâmetros genéticos em café Conilon. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37:61-69.

- 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.
- Mulamba, N. N.; Mock, J. J. (1978) Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. *Egyptian Journal of Genetics and Cytology*, 7: 40-51.
- Paiva, J. R.; Resende, M. D. V.; Cordeiro, E. R. (2002) Índice multiefeitos e estimativas de parâmetros genéticos em aceroleira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37: 799-807.
- 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.; Buchse, A. (2008) BLUP for phenotypic selection in plant breeding and variety testing. *Euphytica*, 161: 209-228.
- 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) 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.; Barbosa, M. H. P. (2006) Selection via simulated BLUP based on family genotypic effects in sugarcane. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41: 421-429.
- 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.
- Resende, M. D. V.; Fernandes, J. S. C. (1999) Procedimento BLUP (Melhor Predição Linear Não Viciada) individual para delineamentos experimentais aplicados ao melhoramento florestal. *Revista Matemática e Estatística*, 17: 89-107.
- 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.

- Smith, H. F. (1936) A discriminant function for plant selection. *Annals of Eugenics*. 7: 240-250.
- Subandi, W.; Compton, A.; Empig, L. T. (1973) Comparison of the efficiencies of selection indices for three traits in two variety crosses of corn. *Crop Science*, 13: 184-186.
- Venkovsky, R. (1987) Herança quantitativa. In: Paterniani E, Viegas GP (Ed.) *Melhoramento e produção do milho*. Campinas : Fundação Cargill, p.135-214.
- 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. CARACTERIZAÇÃO GENÉTICO-MOLECULAR DE POPULAÇÕES DE MAMOEIRO (CARICA PAPAYA L.) ORIUNDAS DE RETROCRUZAMENTO BASEADO EM LOCOS MICROSSATÉLITES

3.3.1. RESUMO

O baixo número de cultivares melhoradas é um fator limitante para a expansão da cultura do mamoeiro, especialmente quando se considera o tempo necessário para o desenvolvimento de novas variedades via procedimentos clássicos. A associação entre técnicas moleculares e procedimentos convencionais permite reduzir esse tempo e proporciona melhorias direcionadas. Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi realizar a caracterização genético-molecular em genótipos de mamoeiro derivados de três gerações de retrocruzamento, via marcadores microsatélites, buscando o monitoramento do nível de homozigose, bem como da proporção genômica parental nos genótipos avaliados. A distância genética foi calculada pelo índice ponderado e representada por dendograma baseado método hierárquico vizinho mais próximo e pela análise das coordenadas principais. A partir da análise de 20 *locos* microsatélites 77 genótipos foram avaliados, sendo 25 de cada geração do programa de retrocruzamento, além dos genótipos parentais. Os marcadores foram distribuídos em 11 dos 12 grupos de ligação estabelecido para mamão, com número

por GL variando de 1 a 4. Os valores médios encontrados para o coeficiente de endogamia foi de 0,88 (RC₁S₄), 0,47 (RC₂S₃) e 0,63 (RC₃S₂). A análise genômica revelou valores médios do genoma parental recorrente de 82,7% em RC₃S₂, 64,4% em RC₁S₄ e 63,9% em RC₂S₃. Tanto o nível de endogamia quanto as proporções genômicas não seguiram necessariamente os valores médios esperados. Assim, evidencia-se a importância da análise molecular para acessar os respectivos valores dos diferentes genótipos, dada a importância de tais informações nos processos seletivos.

3.3.2. ABSTRACT

The low number of bred cultivars is a limiting factor for the expansion of the papaya culture, mainly considering the time needed for the development of new varieties through classical procedures. Molecular techniques associated to conventional procedures accelerate this process and allow targeted improvements. Thus, the present work aimed at performing the genetic-molecular characterization in papaya genotypes from three backcross generations, via microsatellite markers, seeking to monitor the level of homozygosity and parental genome proportion in the genotypes evaluated. Genotypic indices, such as polymorphism information content (PIC), expected and observed heterozygosity and Shannon index, were estimated to allow inference about the genetic variability of the genotypes evaluated. Based on the analysis of 20 microsatellite loci, 77 genotypes were evaluated; 25 of each generation of the backcross program and the parental genotypes. The markers were distributed in 11, out of the 12 linkage groups established for papaya. The number per LG ranged from 1 to 4. The average values found for the coefficient of endogamy was 0.88 (BC₁S₄), 0.47 (BC₂S₃) and 0.63 (BC₃S₂). The genomic analysis revealed average values of the recurrent parent genome of 82.7% in BC₃S₂; 64.4% in BC₁S₄; and 63.9% in BC₂S₃. Neither the level of endogamy nor the genomic proportions necessarily follow the expected average values. It demonstrates the significance of

the molecular analysis to access the respective values of different genotypes, given the importance of such information for selection processes.

3.3.3. INTRODUÇÃO

Carica papaya L. é sem dúvida a espécie mais importante economicamente e a mais conhecida dentro da família *Caricaceae*, sendo classificada dentro do gênero monoespecífico, *Carica*. Devido ao seu pequeno genoma, rápida produção e abundância no desenvolvimento de sementes, esta espécie tem sido considerada um potencial modelo genômico para a análise de características biológicas relevantes para culturas tropicais (Moore and Ming, 2008; Eustice et al., 2008).

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 na 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 materiais genéticos divergente, proporcionando o estabelecimento de novas combinações gênicas.

No Brasil, os campos de produção de mamão são constituídos basicamente por linhagens endogâmicas e cultivares híbridas. Estas últimas parecem ser uma tendência mundial (Oliveira et al., 2010) tanto pela alta produção, quanto pelo rápido retorno do investimento (Chan, 2009). Por outro lado, na busca pelo desenvolvimento e disponibilização de novos materiais genéticos, as linhagens superiores tanto podem ser diretamente disponibilizadas aos produtores, como podem ser utilizadas em programas de hibridação para o desenvolvimento de híbridos estáveis. A utilização de linhagens endogâmicas como cultivar comercial na cultura do mamoeiro

é possível devido a sua biologia floral, onde a estrutura reprodutiva de plantas hermafroditas proporciona a autofecundação, bem como pela ausência de depressão por endogamia (Chan et al., 2009; Oliveira et al., 2010). Assim, o hermafroditismo destaca-se como uma condição de grande relevância para os programas de melhoramento do mamoeiro que visam o desenvolvimento de novas cultivares.

No mamoeiro, as plantas podem apresentar-se em três formas sexuais morfologicamente distintas: feminina, masculina e hermafrodita. Ao longo do tempo, várias hipóteses foram propostas para explicar a determinação genética dessas formas sexuais (Storey, 1953; Hofmeyr et al., 1967; Horovitz and Jiménez, 1967; Sondur et al., 1996). Os recentes avanços na área da pesquisa genômica têm demonstrado, através de construção de mapa genético (Ma et al., 2003), mapa físico (Liu et al., 2004), mapeamento *in situ* (Yu, et al., 2007) e sequenciamento (Liu et al., 2004; Yu, et al., 2008), que a determinação do sexo no mamoeiro é controlada por um par de cromossomos sexuais evoluído recentemente, os quais apresentam diferenças apenas a nível molecular. Os cromossomos denominados Y e Y^h apresentam uma pequena região macho-específica com cerca de 4-5Mb responsável pela expressão do hermafroditismo e masculinidade (Liu et al., 2004).

De posse desses conhecimentos, a transferência dessa região genômica para materiais dióicos de grande potencial genético e agrônômico para o melhoramento tem sido conduzida via retrocruzamento em programa de melhoramento conduzido pelo grupo de pesquisa da UENF (Silva et al., 2008; Ramos et al., 2011a). O método de retrocruzamento consiste na introgressão de alelos favoráveis em genótipos adaptados a partir de cruzamento seguido por sucessivos ciclos de cruzamento recorrente no intuito de reduzir a proporção genômica do parental doador (Allard, 1960). A sua eficiência pode ser significativamente elevada com a associação dos marcadores moleculares para auxiliar na estimação da proporção genômica dos indivíduos, bem como para acelerar a recuperação do genoma parental recorrente (Young and Tanksley, 1989; Hospital and Charcosset, 1997; Servin and hospital, 2002).

Apesar da grande tendência de se utilizar o maior número possível de marcadores moleculares disponíveis no intuito de obter estudos genéticos mais precisos, os microssatélites ainda vêm sendo a classe de marcadores mais

empregada para as mais variadas finalidades. A natureza altamente mutável dos microssatélites faz deles um marcador potencialmente poderoso para distinguir polimorfismo de DNA entre genótipos intimamente relacionados (Eustice et al., 2008). Outros atributos desse marcador são a sua natureza multialélica, reprodutibilidade, alto conteúdo informativo, herança codominante, alta abundância e extensiva cobertura do genoma (Gupta and Varshney, 2000). Em mamoeiro, centenas de microssatélites já foram identificados e caracterizados (Eustice et al., 2008; Oliveira et al., 2010), sendo a localização genômica de muitos desses determinada por mapeamento genético (Chen et al., 2007).

Nesse sentido, no presente trabalho teve-se por objetivo: i) acessar o potencial dos marcadores microssatélites em detectar polimorfismo em genótipos de mamoeiro; ii) realizar a caracterização genética, buscando estimar índices genotípicos para a quantificação e estruturação da variabilidade genética; iii) monitorar o nível de endogamia nos materiais genéticos estudados; iv) estimar a proporção genômica do parental recorrente na população avaliada.

3.3.4. MATERIAL E MÉTODOS

3.3.4.1. Material Vegetal

Foi avaliado um total de 75 genótipos derivados do programa de melhoramento genético do mamoeiro conduzidos na UENF, além dos genótipos parentais (Cariflora e SS783). As famílias avaliadas são derivadas de três gerações de retrocruzamento, sendo 25 da primeira (RC_1), 25 da segunda (RC_2) e 25 da terceira geração (RC_3) de cruzamento recorrente com o genitor Cariflora, conforme representado na Figura 1. Tais progênes vêm sendo conduzidas via procedimento semelhante ao método genealógico, visando o desenvolvimento de linhagens superiores.

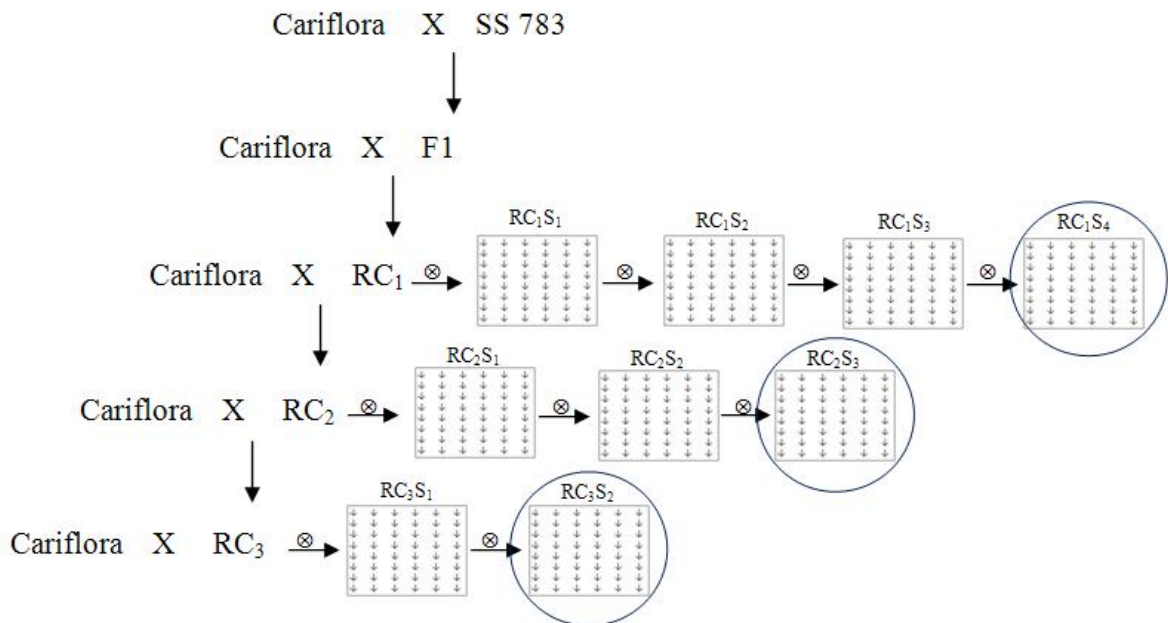


Figura 1 - Procedimento de melhoramento utilizado para obter os genótipos avaliados nesse estudo.

As progênes segregantes avaliadas foram derivadas do cruzamento inicial entre o genótipo dióico Cariflora e a cultivar Sunrise Solo 783 (SS783) no programa de retrocruzamento. Esse programa tem como finalidade transferir para o genótipo dióico Cariflora a região genômica que determina a expressão do hermafroditismo em mamoeiro, haja vista que tal genótipo apresenta boa capacidade combinatória (geral e específica) quando cruzados com genótipos do grupo ‘Solo’ (Marin et al., 2006). Porém, devido ao alto grau de heterozigose proporcionado pela dioicia, torna-se impraticável a sua utilização em cruzamentos por resultar em progênes (ou híbridos) desuniformes.

O genótipo elite SS783, utilizado como parental doador (PD) do hermafroditismo, apresenta alto grau de homozigose. O cruzamentos entre genótipos hermafroditas dessa cultivar resulta em uma segregação para o sexo na proporção de duas plantas hermafroditas para uma planta feminina, sendo então denominada de população ginóico-andromonóico. Essa cultivar elite pertencente ao grupo ‘Solo’ e apresenta frutos com formato pêra, polpa vermelha, boa qualidade e peso médio de

0,52 kg (Silva et al., 2007). Por outro lado, o genótipo Cariflora, utilizado como parental recorrente (PR), é uma seleção dióica, com polpa amarela, firmeza de fruto moderada e agradável sabor. Seus frutos apresentam peso médio em torno de 1,67 kg, com forma arredondada e grande cavidade interior.

3.3.4.2. Extração de DNA genômico

A extração do DNA genômico total foi efetuada a partir de folhas jovens seguindo a metodologia do Plant Genomics DNA Extraction Kit YGP 100 - RBC (BioAmerica). Amostras de folhas jovens foram colhidas individualmente para cada genótipo das gerações avaliadas, ao passo que para os genótipos parentais a coleta foi realizada em *bulk*, ou seja, foi constituído por uma amostra de cinco plantas de cada parental, com o objetivo de tentar amostrar o maior número possível de formas alélicas presentes em cada um dos genitores para cada loco analisado.

Após a extração, o DNA foi submetido à quantificação 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 GelRed™ e Blue Juice (1:1) e a imagem capturada pelo sistema de fotodocumentação MiniBis Pro (Bio-Imaging Systems). Posteriormente, as imagens foram submetidas à análise no software Imagej e diluídas para a concentração de trabalho de 10ng/μL.

3.3.4.3. Análise SSR

O DNA dos genótipos parentais foi utilizado inicialmente para a realização de uma triagem de iniciados microssatélites, com a finalidade de identificar locos SSR capazes de diferenciar os dois genitores. No total, foram analisadas 84 regiões genômicas contendo sequências microssatélites, sendo que destas apenas 20 possibilitaram uma diferenciação bem definida entre os parentais. Tais regiões foram acessadas a partir de iniciadores SSR desenvolvidos por Eustice et al. (2008), cuja a localização genômica foi determinada por mapeamento genético realizado por Chen et al. (2007).

Assim, as reações de amplificação da progênie segregante juntamente com os genótipos parentais foram feitas utilizando 20 iniciadores SSR e realizadas para um volume final de 15µL, conforme descrito por Ramos et al. (2011b), com variação na temperatura de anelamento entre 60°C e 63,5°C, de acordo com cada *primer* (Tabela 1). Os produtos de amplificação foram separados em gel de agarose Metaphor 4%, corado com GelRed™ e visualizado através do sistema de fotodocumentação MiniBis Pro (Bio-Imaging Systems).

3.3.4.4. Análise dos dados

Os dados obtidos a partir da amplificação dos iniciadores SSR foram convertidos em código numérico para cada alelo por *loco*. Tal matriz numérica foi desenvolvida atribuindo-se valores de 1 até o número máximo de alelos no *loco*, como descrito a seguir: para um *loco* que apresenta três alelos, tem-se a representação 11, 22 e 33 para as formas homozigotas (A_1A_1 , A_2A_2 e A_3A_3) e 12, 13 e 23 para as heterozigotas (A_1A_2 , A_1A_3 e A_2A_3). A partir dessa matriz numérica, foi calculada a distância genética entre os genótipos estudados, com o auxílio do programa GENES (Cruz, 2008) utilizando o Índice Ponderado, conforme proposto por Ramos et al. (2011c). A análise de agrupamento dos genótipos via dendograma foi feita por meio do método hierárquico Vizinho Mais Próximo (Saitou and Nei, 1987), 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 o programa Genalex 6.3 (Peakall and Smouse, 2009).

Os programas PowerMarker versão 3.25 (Liu and Muse, 2005) e Popgene versão 1.31 (Yeh et al., 1999) foram utilizados para estimar os valores do conteúdo de polimorfismo (PIC), índice de Shannon, heterozigose esperada (H_E) estimada através da proporção esperada de heterozigotos sobre acasalamento ao acaso; heterozigose observada (H_O) estimada a partir da proporção de heterozigotos observados em um dado *loco*; e o coeficiente de endogamia (f). Os genótipos ainda foram avaliados quanto à estruturação genética. Para tanto, utilizou-se o método bayesiano através do programa Structure 2.3.1 (Pritchard et al., 2000). Empregou-se o modelo de presença de mistura (“admixture model”) e frequências alélicas

correlacionadas, usando "Burnin Period = 5.000", seguido de extensão de 50.000 repetições durante a análise.

A análise de proporção do genoma do genitor recorrente transferido para os indivíduos das gerações três gerações de retrocruzamento foi realizada por meio da anotação dos alelos do genitor recorrente presentes em cada indivíduo das gerações segregantes para os 20 *locos* SSR genotipados. As informações de alelos compartilhados foram reunidas em uma tabela do Microsoft Excel, onde se calculou a porcentagem do genoma do genitor recorrente nos indivíduos segregantes. A partir dados obtidos, foram gerados gráficos indicando a proporção dos genomas dos genitores recorrentes e doadores em cada indivíduo das populações.

3.3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 84 marcadores microsatélites foi analisado quanto à capacidade de distinguir em nível molecular os genótipos Cariflora e SS783. Desses, vinte (23,8%) revelaram diferença entre os genótipos parentais e, por tanto, foram utilizados na análise de todos os genótipos avaliados neste estudo. Tais *locos* SSR geraram um total de 46 alelos, com número por *loco* variando entre dois e quatro, gerando uma média de 2,3 alelos/*loco*, considerando todo o conjunto de dados (Tabela 1). Verifica-se que o número de alelos por *loco* encontrado foi muito próximo ao valor mínimo possível, o que está relacionado com a natureza bi-parental do cruzamento inicial que originou a população avaliada.

Embora baixo, o número de alelos encontrado no presente trabalho foi maior do que o apresentado por Ramos et al. (2011b). Isso, provavelmente, se deve ao maior número de gerações analisadas neste estudo, além de uma maior variabilidade presente nas famílias RC₃, visto que estas foram submetidas ao processo de recombinação durante o programa de melhoramento. Além disso, a própria natureza segregante do genitor recorrente propicia uma maior heterozigose

Tabela 1 - Características dos 20 pares de iniciadores microssatélites utilizados na análise dos 75 genótipos derivados de retrocruzamento e dos genótipos parentais

Loco	Sequência do <i>primer</i> (5' → 3')	GL	Ta (°C)	Nº de alelos	H _E	H _O	PIC
P8K39CC	F: CGTCAAGTTGTTGGGTTGGTC R: TGACATCTCCGAAGAGCTGAGA	1	60	2	0,42	0,03	0,33
P3K1200CC	F: TGGTCTCTCGAACGAATAGTGA R: TGATCATCATGCATCTACCAGC	1	63,5	2	0,39	0,20	0,32
P3K6912CC	F: TGAAGCCTCAGTGAATCCAAA R: CCCATGGGAACACATCTATTG	2	60	2	0,49	0,07	0,37
P3K1850CC	F: TTTCTCCCACATGACCCACA R: GGGGGTGCCTTTGGAATCTTT	2	60	2	0,21	0,12	0,19
CPM1621CC	F: ATGGTAACCCAGCGTAGGA R: ACGCCAAATATTCCCAACCC	3	60	2	0,48	0,16	0,37
ctg-14CC	F: GAAAAGGATATGGCGCAACCT R: AGTTCCAGGAAATTGCGGGT	3	60	3	0,48	0,08	0,43
P3K3968A5	F: TGCGATCGAAAGGTTCTTGAG R: TGGAAATGGCTGGTTTTGTCA	4	60	2	0,40	0,12	0,32
P3K1883CC	F: GGTTGAAACGTTAACGGCG R: GGGTAGAGAGTCAATGGATTTTGC	4	60	3	0,47	0,05	0,39
P6K268CC	F: ATGCTTGAGGGACAACCCTT R: AAAAGTATGCAGTCCCCAGTTG	4	63,5	2	0,40	0,21	0,32
P6K128CC	F: GCCGGCTCAGGAGGTTAAGA R: CAATGACCAAACGCCACACA	4	63,5	2	0,31	0,22	0,27
ctg-365A5	F: TTCTTTCACCCGCTCCTCTG R: AAACAACCTCGGCCAACTGA	5	60	3	0,46	0,05	0,38
P3K23CC	F: CGTAAAGGTCGGGTCAGCTA R: TGGTCTTCACATGAAATGAGCTT	6	60	2	0,39	0,22	0,31
P3K1382A5	F: ACAAATCCAGCAAATATCCCATT R: CAACATCTCAATTTGCAAAGCA	6	60	2	0,36	0,16	0,30
ctg-64CC	F: CATCCCGAACACTCACATAAACA R: TGCTTGCTGCTCACTTATGG	7	60	2	0,47	0,40	0,36
ctg-41S5	F: TTCATCGTCTCGCTGAAATTGA R: CCAGTAGGCTCTCCAAATGGG	7	60	2	0,41	0,22	0,32
CPM766CC	F: TACCAAGTTCAGCAAGCGGT R: ATACTTTCTCCCCCTTCGGA	8	60	2	0,44	0,22	0,34
P3K170CC	F: CAATGGAGGGCAGTTTTGATG R: TGGGAGAAAAGGAAAGAACATGA	8	63,5	2	0,44	0,00	0,35
P3K1497CC	F: TGACGGTGAAAATTGCAACA R: AAAAGGGGAGTCCAAATTGGTT	9	60	3	0,65	0,57	0,58
P3K7484C0	F: CGGTAGCGACTCATCGGACT R: TTGACTCGCGAGGAAAGGAG	10	60	2	0,33	0,12	0,28
P3K3510C0	F: GTAGCCGAACGCACAACACA R: CGTGTAAGAAGCGGTAGATCG	12	60	4	0,69	0,88	0,64
					0,44	0,21	0,36

GL: grupo de ligação; Ta: temperatura de anelamento; H_E: heterozigose esperada; H_O: heterozigose observada; PIC: informação do polimorfismo

nas progênies, principalmente na terceira geração de retrocruzamento, estando este resultado de acordo com o esperado.

As características dos iniciadores e sua disposição entre os grupos de ligação (GL) apresentados por Chen et al. (2007) estão resumidos na Tabela 1. Das 20 regiões acessadas pelos iniciadores, quatro são regiões gênicas localizadas no GL3 (1), GL5 (1) e GL7 (2). Entre os demais iniciadores, dois foram obtidos de sub- clones de BACs de mamão e 14 foram desenvolvidos a partir de informações do sequenciamento completo do genoma. Tais marcadores estão distribuídos em 11 dos 12 grupos de ligação encontrados por Chen et al. (2007), onde apenas o GL11 não foi amostrado (Figura 2). O número de marcadores por grupo variou de 1 (GL5, GL9, GL10, GL12) a 4 (GL4). Os demais grupos de ligação foram representados por dois marcadores cada um. Os dados evidenciam que a utilização de marcadores advindos de mapas genéticos permite agregar relevantes informações aos estudos genéticos, tais como, localização e origem das sequências, orientando para uma melhor cobertura do genoma e possibilitando inferência mais precisas sobre a população em estudo.

Alguns estudos têm investigado o número de marcadores necessários para se obter um eficiente controle do “background” genético em programas de retrocruzamento assistido por marcadores (Hospital et al., 1992; Visscher et al., 1996). Tais estudos mostram que a análise de 2 a 4 marcadores por cromossomo permite um bom controle genético. No entanto, tem-se discutido que a posição dos marcadores nos cromossomos pode ser mais relevante do que a quantidade desses para se obter maior eficiência (Servin and Hospital, 2002). Esses mesmos autores encontraram que a posição ótima de dois marcadores no cromossomo é de 20 cM do telômero e acrescentam que um melhor controle do “background” genômico pode ser obtido tanto com a análise de um grande número de marcadores por cromossomo, sem que estes estejam em posições ótimas, como pela utilização de poucos marcadores, estando os mesmos em posições ideais, obtendo-se, assim, a maximização da proporção esperada do genoma recorrente.

Na busca pela quantificação da diversidade genética dentro de populações, muitas medidas descritivas vêm sendo utilizadas, possibilitando inferir sobre a estrutura da população, além da capacidade informativa e discriminatória das

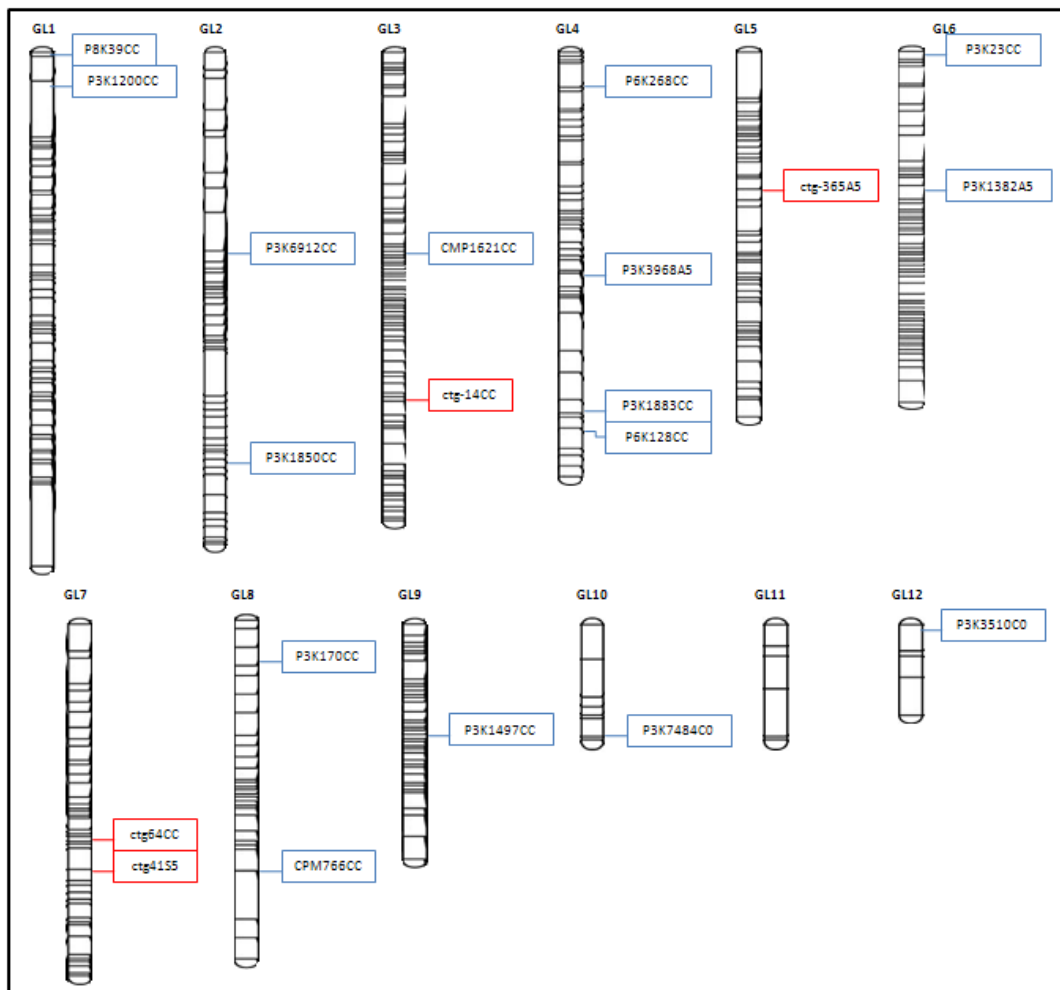


Figura 2 - Diagrama representando os 12 grupos de ligação descritos para mamão, mostrando os 20 marcadores microssatélites utilizados neste trabalho. A posição dos marcadores no mapa e sua relativa distância (Chen et al. 2007).

diversas classes de marcadores moleculares no processo de identificação genotípica e análise da diversidade. A partir da análise dos *locos* SSR, verificou-se que a heterozigose esperada (H_E) na população variou de 0,21 a 0,70, com média de 0,44, enquanto que a heterozigose observada (H_O) variou de 0,00 a 0,88, com média 0,21 (Tabela 1). A baixa heterozigosidade da população é perfeitamente esperada e está relacionado com o alto grau de seleção praticada sobre a mesma. No entanto, a discrepância entre os valores esperados e observados de heterozigose pode estar relacionada com a falha de alelos (*drop-out*) durante a amplificação na reação de

PCR, bem como com a estrutura da população em endogamia (Fukunaga et al., 2005).

Assim como a heterozigidade, o conteúdo de informação do polimorfismo (PIC) também pode ser empregado para quantificar o polimorfismo genético de cada *loco* na população. O maior valor para o PIC foi encontrado para o *loco* P3K3510C0 (0,64), e o menor valor para o P3K1850CC (0,19), com média de 0,36. Os valores do PIC demonstram que o *loco* P3K3510C0, localizado no G12, possui o maior poder discriminatório entre os *locos* analisados, dado corroborado pelo maior número de alelos encontrados para esta região genômica. Cruz et al. (2011) mencionam que quanto maior o número de alelos mais o valor do PIC se aproximará da heterozigose esperada. Verifica-se, na Tabela 1, que a menor diferença entre PIC e H_E foi apresentada pelo *loco* P3K3510C0.

O índice de Shannon tem sido empregado em estudos genéticos como medida de diversidade dentro de populações e se assemelha a um índice de riqueza genotípica. Tal índice define que a diversidade será tanto maior quanto mais próximos da unidade forem os valores estimados. Considerando todos os genótipos analisados, os valores desse índice variaram de 0,35 a 1,26. O valor médio de 0,67 revelou a existência de moderada variabilidade nesta população, porém, suficiente para a continuidade deste programa de melhoramento. Quando considerado cada geração de retrocruzamento separadamente, verificou-se valores médios desse índice de 0,64, 0,26 e 0,63 para as gerações RC_1S_4 , RC_2S_3 e RC_3S_2 , respectivamente, indicando menor diversidade genética para a geração RC_2S_3 .

A análise da diversidade genética entre os genótipos a partir da estimativa da heterozigose mostrou que os valores esperados, em geral, foram maiores do que os observados. A exceção foi verificada para o parental recorrente (PR), Cariflora, o qual apresentou valores de H_E e H_O iguais a 0,43 e 0,60, respectivamente. A heterozigose esperada variou de 0,43 a 0,68, enquanto que a observada variou de 0,05 a 0,60 (Tabela 2). Considerando as três gerações de retrocruzamento individualmente, os valores para H_O variaram entre 0,05 e 0,40 para indivíduos da

Tabela 2 - Genótipos derivados de três gerações de retrocruzamento e respectivos valores da heterozigose esperada (H_E), heterozigose observada (H_O) e coeficiente de endogamia (f)

Genótipos	H_E	H_O	f	Genótipos	H_E	H_O	f
Cariflora	0,43	0,60	-0,41	17RC2-20S3-19	0,67	0,05	0,93
SS783	0,65	0,05	0,93	17RC2-20S3-20	0,66	0,05	0,93
52RC1-7S4-1	0,68	0,10	0,86	17RC2-20S3-21	0,65	0,10	0,85
52RC1-8S4-1	0,64	0,05	0,92	17RC2-20S3-22	0,65	0,10	0,85
52RC1-9S4-1	0,53	0,18	0,68	17RC2-20S3-23	0,64	0,05	0,92
52RC1-11S4-1	0,64	0,16	0,76	17RC2-20S3-24	0,63	0,10	0,85
52RC1-12S4-1	0,59	0,30	0,50	17RC2-20S3-25	0,64	0,10	0,85
52RC1-13S4-1	0,57	0,20	0,66	17RC2-20S3-14	0,66	0,05	0,93
52RC1-15S4-1	0,65	0,10	0,85	17RC2-20S3-15	0,65	0,10	0,85
52RC1-15S4-2	0,66	0,05	0,92	17RC2-20S3-16	0,66	0,05	0,92
52RC1-15S4-3	0,65	0,11	0,84	17RC2-20S3-17	0,67	0,05	0,93
52RC1-15S4-4	0,65	0,10	0,85	17RC2-20S3-12	0,65	0,10	0,85
52RC1-22S4-1	0,63	0,15	0,77	17RC2-20S3-13	0,66	0,05	0,93
52RC1-24S4-1	0,66	0,10	0,85	21RC3-27S2-1	0,54	0,37	0,33
52RC1-21S4-1	0,64	0,17	0,74	21RC3-27S2-2	0,59	0,50	0,16
52RC1-21S4-2	0,63	0,40	0,37	22RC3-28S2-1	0,56	0,20	0,65
52RC1-21S4-3	0,64	0,40	0,38	22RC3-28S2-2	0,57	0,25	0,57
52RC1-21S4-4	0,61	0,35	0,43	22RC3-28S2-3	0,56	0,26	0,54
52RC1-21S4-5	0,59	0,30	0,50	22RC3-29S2-1	0,59	0,15	0,75
52RC1-21S4-6	0,64	0,35	0,46	22RC3-29S2-2	0,56	0,20	0,65
52RC1-21S4-7	0,64	0,37	0,43	19RC3-30S2-1	0,56	0,25	0,56
52RC1-21S4-8	0,61	0,25	0,59	19RC3-30S2-2	0,55	0,30	0,46
52RC1-21S4-9	0,64	0,32	0,52	19RC3-30S2-3	0,53	0,30	0,44
52RC1-21S4-10	0,66	0,25	0,63	6RC3-31S2-1	0,51	0,26	0,49
52RC1-21S4-11	0,64	0,40	0,38	6RC3-31S2-2	0,50	0,32	0,38
52RC1-21S4-12	0,64	0,40	0,38	6RC3-32S2-1	0,61	0,16	0,75
52RC1-21S4-13	0,63	0,30	0,53	6RC3-32S2-2	0,65	0,28	0,58
17RC2-20S3-1	0,65	0,10	0,85	6RC3-32S2-3	0,58	0,15	0,75
17RC2-20S3-2	0,64	0,05	0,92	16RC3-33S2-1	0,48	0,35	0,28
17RC2-20S3-3	0,66	0,10	0,85	16RC3-33S2-2	0,50	0,42	0,16
17RC2-20S3-4	0,67	0,11	0,85	5RC3-34S2-1	0,51	0,26	0,49
17RC2-20S3-5	0,66	0,05	0,93	5RC3-34S2-2	0,58	0,25	0,58
17RC2-20S3-6	0,65	0,10	0,85	5RC3-34S2-3	0,51	0,37	0,28
17RC2-20S3-7	0,66	0,10	0,85	5RC3-35S2-1	0,56	0,37	0,35
17RC2-20S3-8	0,65	0,10	0,85	5RC3-35S2-2	0,56	0,39	0,31
17RC2-20S3-9	0,65	0,10	0,85	4RC3-36S2-1	0,54	0,25	0,54
17RC2-20S3-10	0,66	0,05	0,93	4RC3-36S2-2	0,49	0,30	0,40
17RC2-20S3-11	0,66	0,10	0,85	4RC3-36S2-3	0,60	0,40	0,34
17RC2-20S3-18	0,66	0,05	0,93				

H_E : heterozigose esperada; H_O : heterozigose observada; f : coeficiente de endogamia

geração RC_1S_4 , de 0,05 a 0,11 na geração RC_2S_3 , e de 0,15 e 0,50 na geração RC_3S_2 , e médias de 0,23, 0,08 e 0,29, respectivamente. Estimativas reduzidas da heterozigose pode ser resultado da presença de alelos nulos, um problema inerente dos marcadores codominantes. Esse problema pode ser contornado com a utilização de um grande número de marcadores moleculares, resultando em estimativas mais próximas ao esperado (Oliveira et al., 2010).

A análise desses índices genotípicos permitiu constatar maior diversidade entre indivíduos provenientes das populações RC_1S_4 e RC_3S_2 . Essa maior variabilidade encontrada para as gerações RC_1S_4 e RC_3S_2 pode ser explicada pela variação existente em relação ao pedigree das famílias que as compõem. A geração RC_3S_2 , além de uma maior variação entre suas progênes, também possui um menor número de ciclos de autofecundação, o que contribui para que o mesmo apresente um maior nível de heterozigose. Por outro lado, os resultados observados no RC_2S_3 são justificados pela pobre amostragem dessa geração, dado que os indivíduos avaliados são provenientes de uma única planta da geração anterior (RC_2S_2). De acordo com Cruz et al. (2011), em populações de retrocruzamento há uma tendência de decréscimo nos valores de PIC, índice de Shannon (ou riqueza genotípica da população) e heterozigose observada ao longo das gerações, o mesmo ocorrendo em relação ao avanço das gerações de autofecundação, ou seja, há uma perda progressiva de variabilidade.

Em programas de melhoramento que visam o desenvolvimento de linhagens, a análise do coeficiente de endogamia, ou índice de fixação, torna-se um parâmetro de grande importância por permitir mensurar o nível de homozigose e heterozigose na população. Entre os genótipos parentais utilizados neste estudo, o valor do índice de fixação foi de -0,41 para o Cariflora (parental recorrente) e de 0,93 para o SS783 (parental doador) (Tabela 1), estando próximo ao esperado dado à natureza genética dos mesmos. No entanto, valores negativos do coeficiente de endogamia não são comuns, podendo este resultado verificado no parental recorrente estar associado com o maior valor encontrado para heterozigosidade observada em relação à heterozigosidade esperada, sugerindo um possível excesso de locos em heterozigose neste indivíduo.

A análise do coeficiente de endogamia entre os indivíduos das diferentes gerações de retrocruzamento mostrou valores variando entre 0,37 e 0,92 em RC_1S_4 ; 0,85 e 0,93 em RC_2S_3 e, 0,16 e 0,75 em RC_3S_2 , com valores médios de

0,63, 0,88 e 0,47, respectivamente. Considerando a geração de retrocruzamento em que os genótipos se encontram e, concomitantemente, o número de gerações de autofecundação as quais os mesmos foram submetidos, o coeficiente de endogamia médio teoricamente esperado é de 0,95, 0,92 e 0,86 para RC₁S₄, RC₂S₃ e RC₃S₂, respectivamente. No entanto, o que se observa nos resultados são valores significativamente abaixo do esperado, especialmente para as gerações RC₁S₄ e RC₃S₂, evidenciando que o alto nível de heteroziguidade ainda é mantido com base nos locos microssatélites analisados. Cruz et al. (2011) ressaltam que o principal efeito da endogamia é diminuir a heteroziguidade na população, quando comparada a heteroziguidade esperada.

Índices ótimos do coeficiente de endogamia foram encontrados por Oliveira et al. (2010) ao analisar 83 linhas puras e três populações segregantes de mamão. Os autores utilizaram 20 locos microssatélites polimórficos na seleção assistida por marcadores e encontraram valores de coeficiente de endogamia variando de 0,63 a 1,00, sendo identificadas 11 linhas com 100% de endogamia, além de 18 linhagens com valores muito próximos ao máximo (de 0,95 a 0,96). Este estudo demonstrou que o emprego dos marcadores microssatélites na seleção assistida pode ser um eficiente procedimento empregado para o desenvolvimento de linhas endogâmicas de mamão.

Devido à natureza codominante dos marcadores microssatélites, torna-se possível estimar tanto o nível de fixação dos locos quanto à constituição genômica do indivíduo. Em relação à proporção média de recuperação do genoma recorrente (PR) nas progênies, teoricamente, espera-se que cada geração t de retrocruzamento seja similar ao genitor recorrente na ordem de $1 - (1/2)^{t+1}$, em termos de média (Allard, 1960). A análise da proporção genômica parental na progênie revelou uma média de 70,3% do genoma do PR, considerando todos os genótipos avaliados. A análise por geração mostrou que a maior proporção do genoma PR foi apresentada pelos genótipos da geração RC₃S₂, com valores variando de 66,7 a 97,5%, e média de 82,7%. A segunda maior proporção foi observada na geração RC₁S₄, com média de 64,4% e variação entre os genótipos de 47,5 a 76,3%. Finalmente, a geração RC₂S₃ apresentou a menor proporção média do genoma PR (63,9%), com valores individuais variando de 55 a 70% (Figura 3). Nota-se, pela variação dos valores individuais em cada geração, que alguns genótipos apresentam proporções

genômicas do PR dentro do esperado, exceto para segunda geração. Quando a análise é feita em nível de média por geração, observa-se que esse valor encontra-se abaixo do que teoricamente é esperado. Isso, porque a similaridade genômica de cada indivíduo segregante com o parental recorrente depende tanto do número de gerações de retrocruzamento quanto do nível de recombinação, mesmo este sendo restringido à medida que avança as gerações de autofecundação.

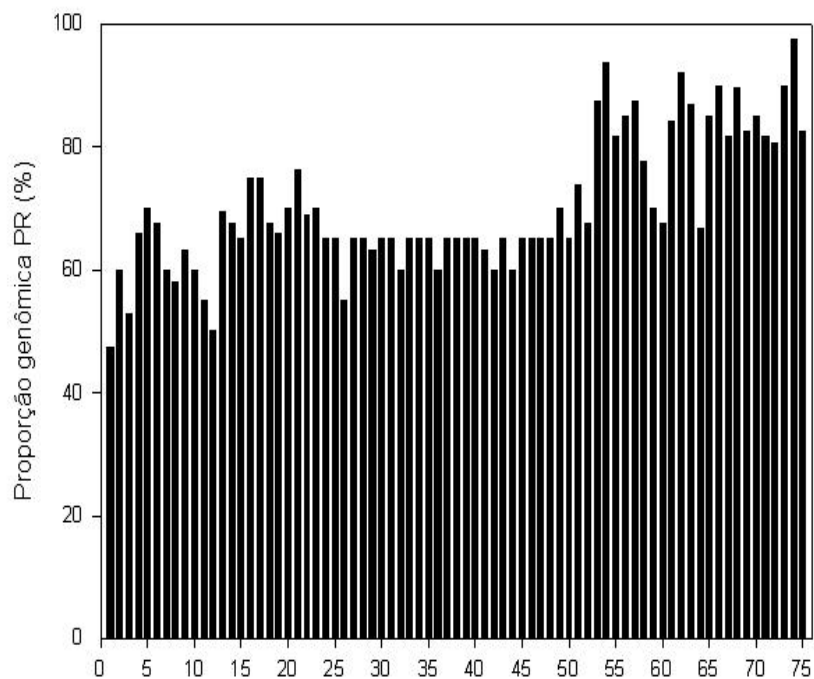


Figura 3 - Proporção genômica do parental recorrente (PR) dos genótipos pertencentes às gerações RC_1S_4 (1 a 25), RC_2S_3 (26 a 50) e RC_3S_2 (51 a 75).

Uma justificativa proposta por Frisch et al. (1999) considera que blocos gênicos ligados ao(s) gene(s) de interesse (*linkage drag*) oriundos do genitor doador podem ser inseridos ao genótipo recorrente, contribuindo para que, ao longo das gerações, as proporções esperadas não sejam encontradas. Além disso, esses seguimentos oriundos do genitor doador podem carregar genes desfavoráveis. Neste caso, a seleção fenotípica juntamente com a seleção

molecular pode maximizar a possibilidade de estas características serem excluídas do programa de melhoramento.

Assim como no presente trabalho, Ramos et al. (2011b), ao analisar três progênies RC₁ oriundas desse mesmo programa de melhoramento via marcadores microssatélites, também encontraram proporções genômicas do genitor recorrente abaixo do esperado. Nesse caso específico, as progênies avaliadas foram derivadas de uma única planta RC₁, o que tornou o resultado desse estudo pontual. Da mesma forma, Silva et al. (2007), ao utilizar os marcadores RAPD para selecionar genótipos RC₁ para obtenção da segunda geração de retrocruzamento, também encontraram proporções abaixo do esperado. Dado que o principal objetivo desse programa de melhoramento é a transferência do gene para o hermafroditismo e considerando que as variedades comerciais de mamão no Brasil são do tipo hermafroditas e agronomicamente semelhantes ao genitor doador, a seleção para atributos fenotípicos pode ter ocasionado o desvio da seleção a favor do genitor doador, retardando a recuperação do genoma recorrente (Ramos et al., 2011b).

Apesar disso, é possível verificar, no presente estudo, genótipos com proporções genômicas satisfatórias, indicando que mesmo diante da tendência de se direcionar a seleção a favor do genitor doador, o programa tem obtido resultados aceitáveis. Servin and Hostipal (2002) ressaltam que mesmo quando a seleção por marcadores não é efetivamente aplicada, o acréscimo do genoma recorrente na população vai ocorrer devido ao retrocruzamento. No entanto, sem uma seleção efetiva essa recuperação pode ser mais lenta, requerendo um maior número de gerações para que os resultados esperados sejam obtidos.

A análise da estrutura genética das gerações de retrocruzamento também foi realizada com auxílio do programa *Structure* (Figura 4). A partir desta análise é possível verificar claramente a distinção das gerações avaliadas, tendo os genótipos derivados de RC₁ (codificados como 3) apresentado maior similaridade, em média, com o genitor doador (2), bem como menor definição de zonas híbridas na estruturação dos indivíduos. Verifica-se, também, que a estrutura genética dos descendentes de RC₂ (codificados como 4) corroboram o fato de terem sido originados de uma única planta da geração anterior e que tal planta

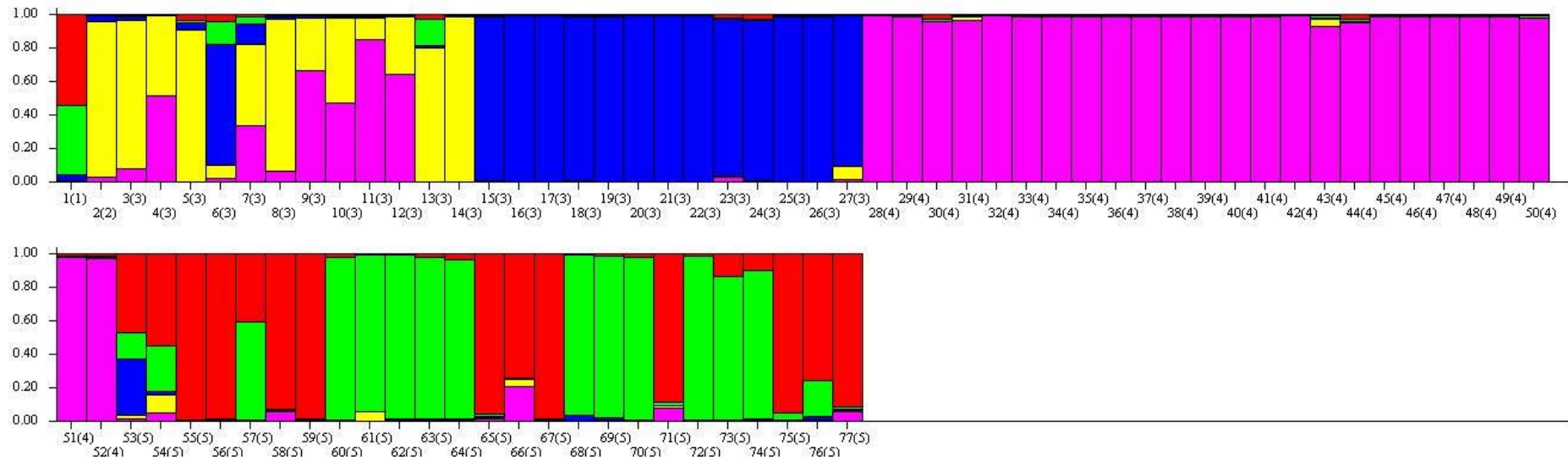


Figura 4 - Análise da estruturação genética dos 75 genótipos de mamão e dos dois genótipos parentais [Cariflora (1) e SS783 (2)]. Os valores entre parênteses representam a geração de retrocruzamento a qual os genótipos pertencem, sendo 3 genótipos da primeira geração (RC₁), 4 da segunda geração (RC₂) e 5 da terceira geração de retrocruzamento (RC₃).

possivelmente encontrava-se geneticamente mais próxima do genitor doador e com maior proporção de alelos fixados. Por outro lado, os genótipos provenientes da geração RC₃ apresentam maior nível de zonas híbridas na estrutura dos indivíduos, no entanto, grande parte compartilhada com o genitor recorrente. Tais resultados são concordantes com as estimativas de diversidade e a anotação dos alelos do genitor recorrente nas progênes.

Por meio da análise de agrupamento, utilizando o método hierárquico vizinho mais próximo (Figura 5), considerando o valor de distância genética de 0,5, nota-se a formação de três grupos principais. O grupo I, o menor em número de indivíduos, foi formado por indivíduos oriundos do RC₁ e o parental doador (SS783); o grupo II reuniu o maior número de genótipos, agrupando todas as progênes derivadas de RC₂, além de alguns representantes do RC₁; e o terceiro grupo foi constituído por indivíduos do RC₃, além do parental recorrente (Cariflora). Percebe-se que os 25 indivíduos provenientes da geração RC₁ foram divididos em duas partes, no qual uma reuniu genótipos com maior variação em relação ao pedigree, agrupando-se junto com genótipos RC₂ no grupo II; e a segunda parte reuniu, basicamente, genótipos oriundos de uma mesma planta da geração RC₁S₃ (geração anterior). Essa subdivisão entre indivíduos RC₁ contribuiu para que maior variação fosse verificada no grupo III, embora a análise de alguns parâmetros tenha demonstrado níveis próximos de diversidade em RC₁ e RC₃. Em relação aos genitores utilizados nesse programa de melhoramento, o agrupamento ocorreu de forma coerente, uma vez que a expectativa é que a cada geração de retrocruzamento aumente a proporção genômica do genitor recorrente na progênie.

A análise das relações genéticas entre os genótipos avaliados também foi verificada por dispersão gráfica, via PCA (Principal Coordinate Analysis) (Figura 6). Juntos, as duas primeiras coordenadas explicaram 72,1% da variação total dos dados, sendo 44,45% dessa variação explicado pela coordenada 1 e 27,65% explicado pela coordenada 2. Tais valores podem ser considerados altos, indicando boa confiabilidade da dispersão apresentada. Verifica-se uma clara separação dos indivíduos provenientes de cada geração de retrocruzamento, exceto alguns genótipos RC₁ que se agruparam próximo aos genótipos RC₂. Em termo de variação dentro de cada geração, confirma-se a menor variação entre

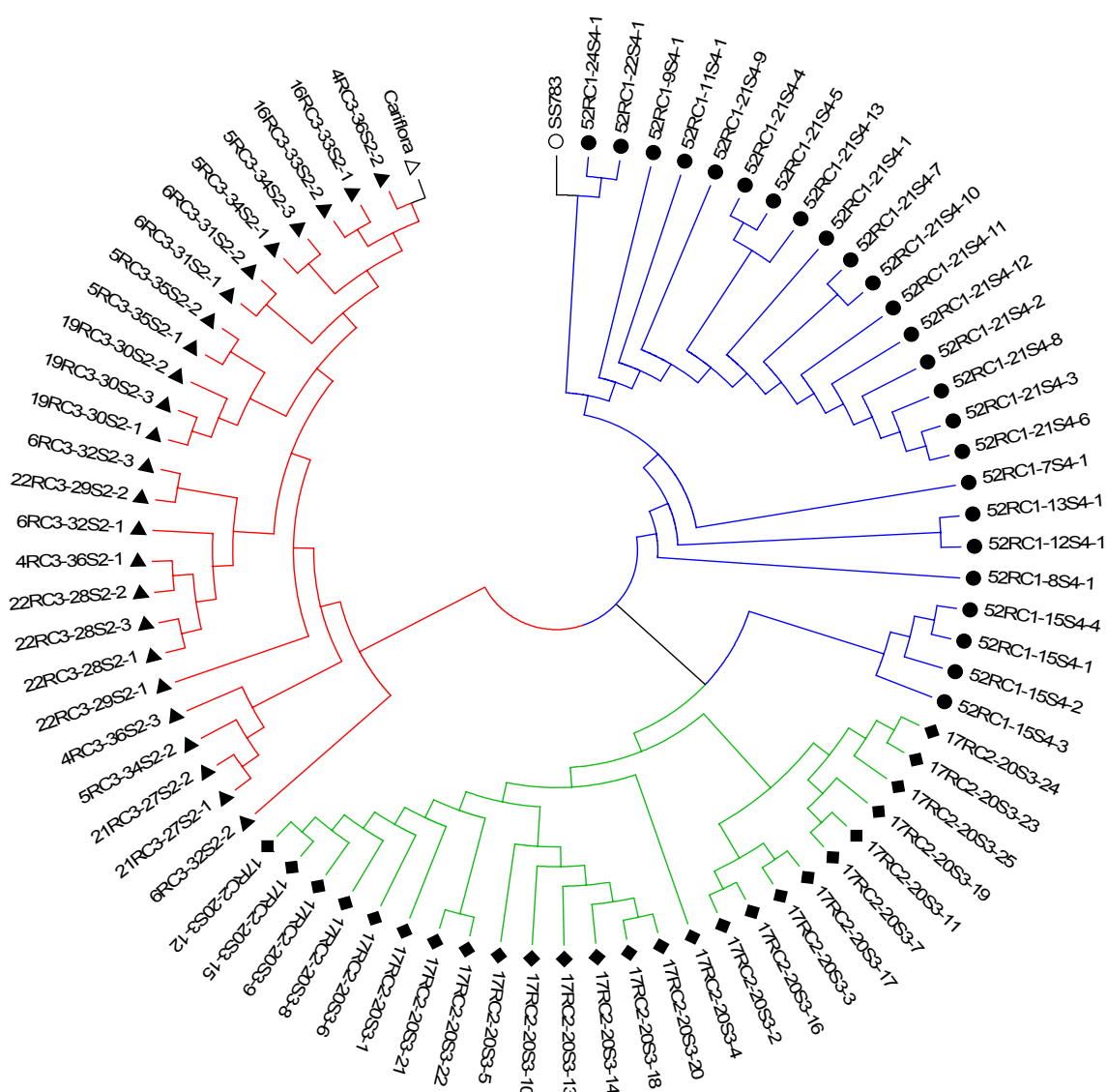


Figura 5 - Dendrograma de dissimilaridade obtidos pelo método Vizinho Mais Próximo, ilustrando a relação genética entre 75 genótipos pertencentes a três gerações de retrocruzamento (RC₁ – azul; RC₂ – verde; RC₃ – vermelho), além dos genótipos parentais Cariflora e SS783, (Coeficiente de correlação cofenética = 0,91).

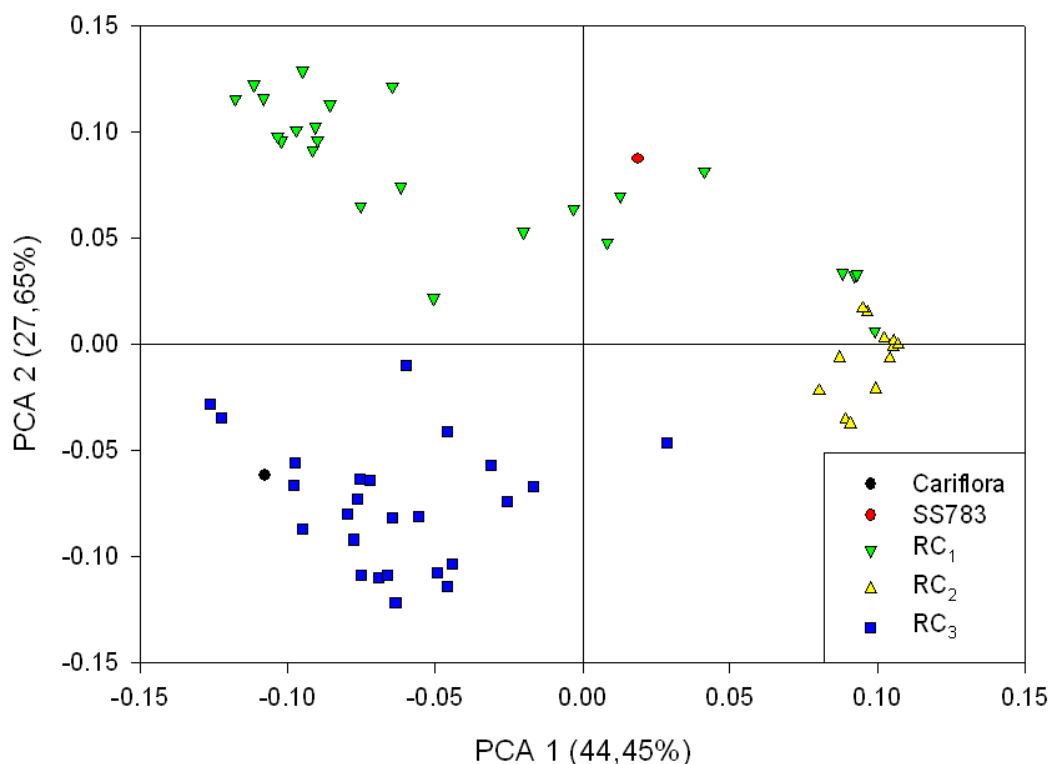


Figura 6 - Análise das Coordenadas Principais, considerando 75 genótipos de mamão derivados de retrocruzamento, o parental recorrente (Cariflora) e o parental doador, com base na matriz de distância obtida pela análise dos marcadores microssatélites.

genótipos do RC₂ e maior entre genótipos RC₃. Esses resultados são altamente condizentes com a análise de agrupamento gerada pelo método vizinho mais próximo, validando as análises realizadas neste estudo.

Estudos práticos visando comparar as estratégias de retrocruzamento assistido por marcadores e baseados em procedimentos convencionais têm sido realizados para algumas culturas (Davies et al., 2006; Oliveira et al., 2008). Os resultados indicam que existe diferença estatisticamente significativa entre as duas estratégias, havendo um aumento de 14,5% na eficiência de recuperação do genoma do parental recorrente quando o retrocruzamento assistido por marcadores microssatélites foi utilizado para monitorar a seleção. Isto tem sido confirmado em estudos genéticos na cultura do mamoeiro (Ramos et al., 2011b), evidenciando que 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.

Os resultados obtidos no presente estudo mostraram que tanto o coeficiente de endogamia quanto as proporções genômicas não seguiram necessariamente os valores médios esperados, evidenciando a importância da análise molecular para acessar os respectivos valores dos diferentes genótipos, dada a importância de tais informações nos processos seletivos. Por outro lado, a análise por métodos aglomerativos mostrou-se coerente na distinção das progênes derivadas das três gerações de retrocruzamento, bem como a sua proximidade genética com os genótipos parentais, ratificando o alto poder discriminatório dos marcadores microssatélites.

A análise da constituição genômica dos indivíduos indica que o objetivo de conversão sexual do genótipo dióico Cariflora tem sido alcançado, tendo em vista os altos valores da proporção parental recorrente encontrados em alguns genótipos da geração RC₃. Assim, cria-se a expectativa de se obter dentro de poucas gerações de autofecundação linhagens do Cariflora convertido para o sexo e agronomicamente superiores, as quais serão destinadas a análise de capacidade combinatória, via *testcross*, para verificar o seu potencial genético tanto em cruzamento quanto *per se*. Futuramente, estas poderão ser lançadas como variedades ou utilizadas como genitores em cruzamentos controlados.

Diante do intento de promover o desenvolvimento de novas linhagens, os resultados evidenciam a necessidade de duas ou três futuras gerações de autofecundação para obter os índices de coeficiente de endogamia desejáveis nas progênes. Por outro lado, a moderada variabilidade presente nas gerações RC₁ e RC₃ são satisfatórias para a continuidade do programa de melhoramento, possibilitando a obtenção de ganhos genéticos com a seleção de genótipos convertidos e agronomicamente superiores. Assim, ratifica-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

- 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.
- 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.
- 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.
- Davies, J., Berzonsky, W. A.; Leach, G. D. (2006) A comparison of marker-assisted and phenotypic selection for high grain protein content in spring wheat. *Euphytica*, 152:117-134.
- 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.
- 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 to rust and anthracnose. *Euphytica*, 138: 213-218.
- Ferreira, M. E.; Grattapaglia, D. (1998) *Introdução ao uso de marcadores moleculares*. 3ª ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, p. 220.

- Frisch, M.; Bohn, M.; Melchinger, A. E. (1999) Comparison of selection strategies for marker-assisted backcross of a gene. *Crop Science*, 39: 1295-1301.
- Fukunaga, K.; Hill, J.; Vigouroux, Y.; Matsuoka, Y.; Sanchez, J. G.; Liu, K.; Buckler, E.; Doebley, J. (2005) Genetic diversity and population structure of teosinte. *Genetics*, 169: 2241-2254.
- 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.
- Hofmeyr, J. D. J. (1967) Some genetic breeding aspects of *Carica papaya* L. *Agronomia Tropical*, 17: 345-51.
- Hospital, F., Chevalet, C., Mulsant, P. (1992) Using markers in gene introgression breeding programs. *Genetics* 132:1199-1210.
- Hospital, F.; Charcosset, A. (1997) Marker-assisted introgression of quantitative trait locos. *Genetics* 147: 1469-1485.
- Horovitz, S.; Jiménez, H. (1967) Cruzamientos interespecificos e intergenericos em caricaceas y sus implicaciones fitotécnicas. *Agronomia Tropical* 17:323-43.
- 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.
- 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.
- Ma, H.; Moore, P. H.; Liu, Z.; Kim, M. S.; Yu, Q.; Fitch, M. M. M. (2004) High-density linkage mapping revealed suppression of recombination loci in papaya. *Genetics*, 166: 419-436.
- 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.
- Moore, P. H.; Ming, R. (2008) Papaya genome: a model for tropical fruit trees and beyond. *Tropical Plant Biology* 1:179-180.
- Oliveira, L. K.; Melo, L. C.; Brondani, C.; Pelos, M. J. D.; Brondani, R. P. V. (2008) Backcross assisted by microsatellite markers in common bean. *Genetic and Molecular Research*, 7:1000-1010.
- 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) GenAlEx Tutorials – Part 1: Introduction to Population Genetic Analysis. Australian National University, Australia.

- Pritchard, J. K.; Stephens, M.; Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945-959.
- 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.
- 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)*.
- 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.; Gonçalves, L. A. G.; Pinto, F. O.; Silva, F. F.; Amaral Júnior, A. T. (2011c) Comparison of multiallelic distances on the genetic diversity quantification in papaya. *Acta Scientiarum*, 33: 59-66.
- Saitou, N.; Nei, M. (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4: 406-425.
- Servin, B.; Hospital, F. (2002) Optimal positioning of markers to control genetic background in marker-assisted backcross. *The Journal of Heredity*, 93: 214-217.
- 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*, 93:547–53.

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.

Visscher, P. M.; Haley, C. S.; Thompson, R. (1996) Marker-assisted introgression in backcross breeding programs. *Genetics* 144:1923-1932.

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

Young, N. D.; Tanksley, S. D. (1989) RFLP analysis of the size of chromosomal segments retained around the *tm-2 loco* of tomato during backcross breeding. *Theoretical and Applied Genetic*, 77:95-101.

Yu, Q.; Hou, S.; Hobza, R.; Feltus, F. A.; Wang, X.; Jin, W.; Skelton, R. L.; Blas, A.; Lemke, C.; Saw, J. H.; Moore, P. H.; Alam, M.; Jiang, J.; Paterson, A. H.; Vykot, B.; Ming, R. (2007) Chromosomal location and gene paucity of the male specific region on papaya Y chromosome. *Molecular Genetics and Genomics*, 278: 177-185.

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. RESUMO E CONCLUSÕES

Embora o Brasil detenha a maior produção mundial de mamão, ainda é grande o desafio para ampliar a base genética da espécie cultivada, proporcionando a 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 aumentar a variabilidade genética dos campos de produção através de programas de melhoramento genético, contribuindo com a solução de problemas agronômicos. Para tanto, torna-se de grande relevância a condução de programas que contemplem a hibridação de indivíduos geneticamente distantes, possibilitando 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, somado 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 populações segregantes de

mamoeiro, associando técnicas clássicas e moleculares para auxiliar na identificação e seleção de genótipos superiores.

Os resultados dos três trabalhos aqui apresentados permitiram detectar, na população avaliada, estimativas de variabilidade genética variando de baixa à moderada. No primeiro estudo considerou-se dados moleculares e quantitativos para analisar a dissimilaridade genética entre 23 progênes derivadas de três gerações retrocruzamento. A maior dissimilaridade encontrada entre progênes selecionadas na primeira geração de retrocruzamento demonstra que a amostragem realizada em RC₁ foi mais adequada do que as realizadas em RC₂ e RC₃, no que se refere à manutenção de uma base genética adequada para o melhoramento. Entre as análises utilizadas, a que considerou os dados quantitativos e moleculares simultaneamente apresentou maior coerência com o pedigree das progênes e proporcionou a formação de um número de grupos adequado. A análise das correlações entre as matrizes evidenciou que os dados quantitativos e moleculares podem ser utilizados simultaneamente em um estudo de dissimilaridade, gerando informações robustas que podem auxiliar efetivamente os programas de melhoramento genético.

A avaliação realizada entre e dentro das progênes 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. Entre os índices utilizados para realizar a seleção, os que consideraram os dados padronizados foram os mais coerentes com o princípio da seleção simultânea, especialmente o IG2, o qual considera o valor genético do indivíduo. A utilização do índice IG2 evitou o efeito de escala, permitindo a seleção de progênes 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 10 melhores famílias e, dentro dessas, a seleção de 23 genótipos superiores com ganhos preditos maiores do que a melhor testemunha, confirmando a possibilidade de progresso genético.

A caracterização genético-molecular de indivíduos derivados das três gerações de retrocruzamento evidenciou que a pobre amostragem na geração RC₂S₃ culminou em uma baixa variação entre os indivíduos, gerando resultados distorcidos. Embora, em geral, tenham sido encontrados valores abaixo do

esperado para nível de endogamia e proporção genômica do parental recorrente, foram identificados, na população avaliada, indivíduos com níveis satisfatórios de homozigose e com proporções genômicas do PR dentro do esperado, criando a expectativa de obter dentro de poucas gerações de autofecundação linhas endogâmicas muito próximas do genitor recorrente. No entanto, constata-se pelos resultados que um monitoramento efetivo com os marcadores moleculares deve ser feito para que os valores esperados sejam obtidos, auxiliando na redução de tempo para que tais linhagens sejam obtidas, bem como direcionando para que sejam selecionados indivíduos com as proporções genômicas desejadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIANUAL: Anuário da agricultura brasileira (2008) São Paulo: FNP Consultoria e Agroinformativos, p. 345-370.
- 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.
- Allard, R. W. (1971) *Princípios do melhoramento genético das plantas*. São Paulo. Edgard Blucher, 381p.
- Alves, F. L. (2003) A cultura do mamoeiro *Carica papaya* L. no mundo, no Brasil e no estado do Espírito Santo. In: Martins, D.S.; Costa, A.F.S. (ed.) *A cultura do mamoeiro: Tecnologia e Produção*. Vitória, ES: INCAPER, 497p.
- Badillo, V. M. (1993) Caricaceae. Segundo esquema. *Rev. Fac. Agron.* 43:1-111.
- Badillo, V. M. (2000) *Carica* L. vs *Vasconcella* St. Hil. (*Caricaceae*): con La rehabilitación de este último. *Ernstia*, 10 (2): 74-79.

- Bered, F.; Barbosa Neto, J. F.; Carvalho, F. I. F. (1997) Marcadores moleculares e sua aplicação no melhoramento genético de plantas. *Ciência Rural*, 27: 513-520.
- Bespalhok, J. C.; Guerra, E. P.; Oliveira, R. A. (1999) Melhoramento de plantas autógamas por seleção. *In: Destro, D. e Montalván, R. (Org.) Melhoramento genético de plantas*. Londrina: UEL, 818p.
- Borém, A. (2005) *Melhoramento de plantas*. 4ª Edição. Viçosa: UFV, 525p.
- Brasil (2010). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso em: 27 de junho de 2010.
- Bueno, L. C. S.; Mendes, A. N. G.; Carvalho, S. P. (2001) *Melhoramento genético de plantas: princípios e procedimentos*. Lavras, MG: UFLA, 282p.
- 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.
- Carrasco, B.; Avila, P.; Perez-Dias, J.; Munõz, P.; García, R.; Lavandero, B.; Zurita-Silva, A.; Retamales, J. B.; Caligaris, P. D. (2009) Genetic structure of highland papayas (*Vasconcellea pubescens* (Lenné et C. Koch) Badillo) cultivated along a geographic gradient in Chile as revealed by Inter Simple Sequence Repeats (ISSR). *Genetic Resource and Crop Evolution*, 56: 331-337.
- 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.
- Costa, A. F. S.; Pacova, B. E. V. (2003) Caracterização de cultivares, estratégias e perspectivas do melhoramento genético do mamoeiro. In: Martins, D.S.; Costa, A.F.S. (ed.) *A cultura do mamoeiro: Tecnologia e Produção*. Vitória, ES: INCAPER, 497p.
- Costa, F. R.; Pereira, T. N. S.; Gabriel, A. P. C.; Pereira, M.G. (2010) ISSR markers for genetic relationships in Caricaceae and sex identification in papaya. *Biologia Plantarum* (no prelo).
- Cruz, J. L.; Trindade, A. V.; Noronha, A. C. S.; Oliveira, A. A. R.; Souza, A. S.; Nascimento, A. S.; et al. (2007) Programa de pesquisa da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical com a cultura do mamoeiro. In: Martins, D.S.; Costa, A.N.; Costa, A.F.S. (ed.) *Papaya Brasil: Manejo, qualidade e mercado do mamão*. Vitória, ES: INCAPER, 704p.
- 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.
- Dantas, J. L. L.; Dantas, A. C. V. L.; Lima, J. F. (2002). Mamoeiro. In: Bruckner, CH (Ed.) *Melhoramento de fruteiras tropicais*. Viçosa, UFV. p. 422.
- Emeruwa, A. C. (1982) Anti bacterial substance from *Carica papaya* fruit extract. *Journal of Natural Products*, 45: 123-127.
- 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.

- Esselman, E. J.; Jianoiang, L.; Crawford, D. J.; Winduss, J. L.; Wolfe, A. D. (1999) Clonal diversity in the rare *Calamagrostis porter* ssp. *Insperta* (Poaceae): comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA (RAPD) and inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Molecular Ecology*, 8: 443-451.
- Falconer, D. S. (1987) *Introdução à genética quantitativa*. Viçosa, UFV, p. 279.
- Fang, D. Q.; Roose, M. L. (1997) Identification of closely related citrus cultivars with inter simple sequence repeat markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 95: 408-417.
- FAOSTAT (2009). <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor> Acesso em: 10 de julho de 2010.
- Fehr, W. R. (1987) *Principles of cultivar development: Theory and Technique*. Iowa State University, vol. 1, 525p.
- Ferreira F. R.; Giacometti, D.C. (1988) Variedades de mamão útil ao melhoramento. In: Ruggiero, C. (Ed) Mamão. Simpósio brasileiro sobre a cultura do mamoeiro. Jaboticabal, 428p.
- Ferreira, M. E.; Grattapaglia, D. (1998) *Introdução ao uso de marcadores moleculares*. 3ª ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, p. 220.
- Ferregueti, G. A. (2008) 01 – O primeiro híbrido de mamão Formosa brasileiro. Disponível: site Caliman Agrícola S/A. http://www.caliman.com.br/Papaya/Papaya_Hibrido.asp. Consultado em 20 de janeiro de 2008.
- 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.

- Giordani, R.; Siepai, O. M. (1991) Antifungal action of *Carica papaya* latex isolation of fungal cell wall hydrolyzing enzymes. *Mycoses*, 34: 469-477.
- Guimarães, C. T.; Paiva, E. (2003) Avaliação da pureza genética em sementes de milho utilizando marcadores microssatélites. Circular Técnica.
- 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.
- Horovitz, S.; Jiménez, H. (1967) Cruzamientos interespecificos e intergenericos em caricaceas y sus implicaciones fitotécnicas. *Agronomia Tropical*, 17: 323–43.
- Hofmeyr, J. D. J. (1939) Sex reversal in *Carica papaya* L. *South Africa Journal of Science*, 26:286–7.
- Hofmeyr, J. D. J. (1967) Some genetic breeding aspects of *Carica papaya* L. *Agronomia Tropical*, 17:345–51.
- Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER). Disponível em: http://www.incaper.es.gov.br/?a=noticias/2010/novembro/noticias_11_11_2010. Acessado em 15 de novembro de 2010.
- 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.
- IBGE. (2010) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/>. Acessado em 30 de junho de 2010.

- IBRAF. (2010) Instituto Brasileiro de Frutas. Disponível em: http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est_frutas.asp. Acessado em 30 de junho de 2010.
- Li, A.; Ge, S. (2001) Genetic variation and clonal diversity of *Psammochloa villosa* (Poaceae) detected by ISSR markers. *Annals of Botany*, 87: 585-590.
- 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) High-density linkage mapping revealed suppression of recombination loco in papaya. *Genetics*, 166: 419-436.
- Magdalita, P. M.; Adkins, S. W.; Godwin, I. D.; Drew, R. A. (1996) An improved embryo rescue protocol for a *Carica* interspecific hybrid. *Australian Journal of Botany*, 44:343-353.
- 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.
- Medina, V. M.; Cordeiro, Z. J. M. (1994) *Mamão para exportação: aspectos técnicos da produção*. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 52p.

- 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.
- 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.
- Oliveira, A. M. G.; Farias, A. R. N.; Santos Filho, H. P.; Oliveira, J. R. P.; Dantas, J. L. L.; Santos, L. B.; Oliveira, M. A.; Souza Júnior, M. T.; Silva, M. J.; Almeida, O. A.; Nickell, O.; Medina, V. M.; Cordeiro, Z. J. M. (1994) *Mamão para exportação: aspectos técnicos da produção*. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 52 p.
- 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.
- Parasnis, A. S.; Ramakrishna, W.; Chowdari, K. V.; Gupta, V. S.; Ranjekar, P. K. (1999) Microsatellite (GATA)_n reveals sex-specific differences in papaya. *Theoretical and Applied Genetics*, 99: 1047-1052.
- Pereira, M. G. (2003) Melhoramento genético do mamoeiro (*Carica papaya* L.): desenvolvimento e recomendação de híbridos. In: *I Semana Acadêmica de Horticultura do Espírito Santo – SEAHORTES*, 1: 61-65.

- 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.
- 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. (2011a) Genetic characterization of papaya plants (*Carica papaya* L.) derived from the first generation of backcross. *Genetic and Molecular Research*, 10: 393-403.
- Ramos, H. C. C.; Pereira, M. G.; 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)*
- Raposo, F. V.; Ramalho, M. A. P.; Abreu, A. F. B. (2000) Comparação de métodos de condução de populações segregantes do feijoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35: 1991-1997.
- Salomão, L. C. C.; Siqueira, D. L.; Santos, D.; Borba, N. A. (2007) *Cultivo do mamoeiro*. Editora UFV, 74p.
- Saxena, S.; Chandra, R.; Srivastava, A. P.; Mishra, M.; Pathak, R. K.; Ranade, S. A. (2005) Analysis of genetic diversity among papaya cultivars using Single Primer Amplification Reaction (SPAR) methods. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 80: 291-296.
- 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, J. A. T.; Rashid, Z.; Nhut, D. T.; Sivakumar, D.; Gera, A.; Souza Júnior, M. T.; Tennant, P. F. (2007) Papaya (*Carica papaya* L.) Biology and Biotechnology. *Tree and Forestry Science and Biotechnology*, 47-73.
- Sondur, S. N.; Manshardt, R. M.; Stiles, J. I. (1996) A genetic linkage map of papaya based on randomly amplified polymorphic DNA markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 93: 547-553.
- Storey, W. B. (1938) Segregations of sex types in Solo papaya and their application to the selection of seed. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 35:83-5.
- 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.
- Van Droogenbroeck, B.; Breyne, P.; Gotghbeur, P.; Romeijn-Peeters, E.; Kyndt, T.; Gheysen, G. (2002). AFLP analysis of genetic relationships among papaya 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.

- 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.; Hobza, R.; Feltus, F. A.; Wang, X.; Jin, W.; Skelton, R. L.; Blas, A.; Lemke, C.; Saw, J. H.; Moore, P. H.; Alam, M.; Jiang, J.; Paterson, A. H.; Vykot, B.; Ming, R. (2007) Chromosomal location and gene paucity of the male specific region on papaya Y chromosome. *Molecular Genetics and Genomics*, 278: 177-185.
- 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.
- Wang, Z.; Weber, J. L.; Zhong, G.; Tanksley, S. D. (1994) Survey of plant short tandem DNA repeats. *Theoretical and Applied Genetics*. 88:1-6.