

MELHORAMENTO POPULACIONAL DO MAMOEIRO (*Carica papaya*  
L.) ASSISTIDO POR MARCADORES MICROSSATÉLITES

**HELAINÉ CHRISTINE CANCELA RAMOS**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY  
RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ  
ABRIL - 2007

MELHORAMENTO POPULACIONAL DO MAMOEIRO (*Carica papaya*  
L.) ASSISTIDO POR MARCADORES MICROSSATÉLITES

**HELAINÉ CHRISTINE CANCELA RAMOS**

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

Orientador: Prof. Messias Gonzaga Pereira

CAMPOS DOS GOYTACAZES -RJ  
ABRIL – 2007

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCTA/ UENF 025/2007

Ramos, Helaine Christine Cancela

Melhoramento populacional do mamoeiro (*Carica papaya* L.)  
assistido por marcadores microsatélites / Helaine Christine Cancela  
Ramos. – 2007.

136 f. : il.

Orientador: Messias Gonzaga Pereira

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) –  
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de  
Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ,  
2007.

Bibliografia: f. 131 – 136.

1. Expressão sexual 2. Sazonalidade 3. Parâmetro genético 4.  
Correlação genética 5. Ganho genético 6. Marcador microsatélite I.  
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de  
Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD– 634.651233

MELHORAMENTO POPULACIONAL DO MAMOEIRO (*Carica papaya*  
L.) ASSISTIDO POR MARCADORES MICROSSATÉLITES

**HELAINÉ CHRISTINE CANCELA RAMOS**

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

Aprovada em 03 de Abril de 2007

Comissão Examinadora:

---

Prof<sup>o</sup>. Alexandre Pio Viana (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF

---

Prof<sup>a</sup>. Telma Nair Santana Pereira (Ph.D., Melhoramento de Plantas) – UENF

---

Prof<sup>o</sup>. Ney Sussumu Sakiyama (D.Sc., Genética e Melhoramento) – UFV

---

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

Aos meus pais, Nagla e Walson Filho, e aos meus irmãos, Liziane e Walsinho,  
que sabiamente suprem o nosso pouco convívio com uma dose  
especial de amor, carinho, confiança e admiração

Dedico este trabalho

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família (minha mãe Nagla e meu pai Walson Filho, meus irmãos Liziane e Walsinho, meus avós, tios, primos e padrinhos) por terem torcido tanto por mim e por transformarem toda a saudade que sentimos em momentos de muito amor, carinho, alegria e confraternização a cada reencontro.

Ao meu namorado Guilherme, pelo carinho e companheirismo, e a sua família pelo carinho com que me acolheram.

Ao meu orientador prof<sup>o</sup> Messias Pereira Gonzaga, pelos ensinamentos e pela confiança na realização deste trabalho.

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

Aos colegas do LMGV, Ana Paula, Yaska, Wellington Campos, Renato Bernabé, Pedro Damasceno, Neuma, Carlos Ide e Elba pela amizade, em especial a Francisco Filho (Chico) e Fernanda Pinto pela grande amizade e pela valiosa ajuda na realização deste trabalho.

À técnica do LMGV, Vitória Régia, e a Valéria pela colaboração nos trabalhos realizados no laboratório e pela amizade.

Às ex-colegas de república, Kaleandra, Ginnie e Jonicélia, pela amizade companheirismo.

À Caliman Agrícola S/A, pelo suporte financeiro e pela infra-estrutura para a realização deste trabalho, em especial aos funcionários Flávio, Welton e Elielder

À UENF, pela oportunidade de realização do mestrado.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Aspecto econômico da cultura.....	3
2.2. Aspecto botânico.....	5
2.2.1. Biologia floral.....	6
2.2.1.1. Tipos florais.....	6
2.2.1.2. Populações com base na expressão do sexo.....	7
2.2.1.3. Herança do sexo.....	8
2.2.1.4. Fatores que influenciam a expressão do sexo em plantas.....	10
2.3. Melhoramento genético do mamoeiro.....	12
2.4. Parâmetros genéticos no melhoramento de plantas.....	13
2.4.1. Ganho genético.....	16
2.5. Cultivares e híbridos comerciais.....	17
2.6. Marcadores moleculares x melhoramento de plantas.....	19
2.6.1. Aplicações do marcador microssatélites no melhoramento.....	22
3. TRABALHOS.....	25
3.1. Influência da sazonalidade na expressão sexual do mamoeiro cultivado no norte do Espírito Santo.....	26
3.1.1. Resumo.....	27

3.1.2. Abstract.....	29
3.1.3. Introdução.....	31
3.1.4. Materiais e métodos.....	33
3.1.4.1. Material genético.....	33
3.1.4.2. Condições experimentais.....	33
3.1.4.3. Características avaliadas.....	34
3.1.4.4. Dados climatológicos.....	35
3.1.4.5. Análise estatística.....	37
3.1.4.5.1. Análise de variância.....	37
3.1.4.5.1.1. Análise de variância individual.....	37
3.1.4.5.1.2. Análise de variância conjunta.....	38
3.1.4.5.2. Parâmetros genéticos.....	39
3.1.4.5.3. Estimativa das correlações genotípicas.....	40
3.1.4.5.4. Estimativa do ganho genético.....	41
3.1.5. Resultados e Discussão.....	42
3.1.5.1. Análise de variância.....	42
3.1.5.2. Análise da expressão sexual no mamoeiro.....	47
3.1.5.3. Estimação dos parâmetros genéticos.....	64
3.1.5.4. Estimação do coeficiente de correlação genotípica.....	68
3.1.5.5. Estimação do ganho genético.....	77
3.1.6. Referências bibliográficas.....	85
3.2. Marcadores microssatélites como ferramenta auxiliar na seleção em gerações S <sub>2</sub> de mamoeiro.....	89
3.2.1. Resumo.....	90
3.2.2. Abstract.....	92
3.2.3. Introdução.....	94
3.2.4. Material e métodos.....	97
3.2.4.1. Material genético.....	97
3.2.4.2. Isolamento de DNA genômico.....	98
3.2.4.3. Marcadores Microssatélites.....	98
3.2.4.3.1. Seleção de iniciadores SSR.....	98
3.2.4.3.2. Desenho e síntese de pares de iniciadores.....	101
3.2.4.3.3. Otimização de PCR e triagem dos iniciadores SSR.....	101
3.2.4.3.4. Reação da polimerase em cadeia (PCR).....	102

3.2.4.4. Análise estatística.....	102
3.2.4.4.1. Variabilidade genética.....	102
3.2.4.4.2. Nível de homozigose dos genótipos.....	103
3.2.5. Resultados e Discussão.....	104
3.2.5.1. Desenho de iniciadores e detecção de polimorfismo.....	104
3.2.5.2. Análise do nível de homozigose e da proporção do genoma parental.....	112
3.2.6. Referências bibliográficas.....	124
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	127
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	130

## RESUMO

RAMOS, HELAINE CHRISTINE CANCELA, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Abril de 2007, Melhoramento populacional do mamoeiro (*Carica papaya* L.) assistido por marcadores microssatélites. Orientador: Messias Gonzaga Pereira. Conselheiros: Alexandre Pio Viana e Telma Nair Santana Pereira.

Apesar da facilidade de cultivo e do grande consumo do mamão, a cultura apresenta problemas relacionados com pragas, doenças, características agrônomicas e, principalmente, reduzida disponibilidade de material melhorado para exploração comercial. Nesse contexto, o melhoramento genético do mamoeiro requer melhor aproveitamento dos métodos clássicos, por meio de seleção de variedades agronomicamente superiores e desenvolvimento de linhagens e/ou híbridos com características comerciais favoráveis. Para assegurar o desenvolvimento de materiais genéticos verdadeiramente superiores, os marcadores moleculares têm sido ferramentas amplamente empregadas no melhoramento associado aos métodos convencionais, reduzindo o tempo necessário para o desenvolvimento de novos materiais para o cultivo. Nesse sentido, objetivou-se neste trabalho obter informações sobre a influência da sazonalidade na expressão sexual em gerações segregantes e em genótipos elite de mamoeiro, realizando um levantamento das deformações (carpeloidia e pentandria), e das reversões ocorridas em flores hermafroditas durante o período de avaliação, bem como estimar alguns parâmetros e o ganho genético com a seleção direta para algumas características relevantes no melhoramento do

mamoeiro. O segundo objetivo desse trabalho foi utilizar marcadores microssatélites como ferramenta auxiliar na seleção em geração  $S_2$  de mamoeiro, realizando o monitoramento do nível de homozigose e da proporção genômica do genitor recorrente ('Cariflora') dentro da população segregante  $52RC_1S_2$ , além de identificar indivíduos segregantes superiores para avaliação como novas variedades ou genitores de híbridos de mamão. Os resultados das avaliações fenotípicas possibilitaram verificar a existência de alterações na expressão sexual dos genótipos avaliados quando submetidos a diferentes estímulos ambientais. Porém, com exceção do número de flores hermafroditas totais (NFHT) e número de flores hermafroditas estéreis (NFHE), todas as características tiveram sua maior expressão durante o verão. Verificou-se também a existência de grande variabilidade genética dentro dos tratamentos segregantes, revelado pelos altos valores do CVg e  $H^2$ , tendo o mesmo variado em função das condições ambientais, possibilitando realizar seleção em diferentes épocas. Além disso, foi possível identificar genótipos menos sensíveis às variações ambientais durante as épocas avaliadas, sendo estes promissores para o avanço de gerações. A partir dos resultados da análise molecular verificou-se que o nível de homozigose entre os 43 genótipos variou de 75% a 94%. Ao considerar os três tratamentos ( $52RC_1S_2$ -34,  $52RC_1S_2$ -29II e  $52RC_1S_2$ -08) separadamente, verifica-se que o maior nível de homozigose foi encontrado na família  $52RC_1S_2$ -08, seguida de  $52RC_1S_2$ -34 e  $52RC_1S_2$ -29II. Por outro lado, fixando-se um ponto de corte de 87% de homozigose, seriam selecionados cerca de 44,2% dos indivíduos avaliados, sendo desses 11,6%, 11,6% e 21% pertencentes às famílias  $52RC_1S_2$ -34,  $52RC_1S_2$ -29II e  $52RC_1S_2$ -08, respectivamente. Por meio da matriz de dissimilaridade, gerada pelo método hierárquico UPGMA, pode-se observar uma distância média entre os 43 genótipos avaliados de 0,68, com números que variaram de 0,50 a 0,837, enquanto que a distância observada entre os genótipos parentais foi de 0,86. A partir dos resultados deste trabalho é possível inferir que os marcadores microssatélites mostraram-se eficientes em acessar o nível de homozigose da população, bem como em discriminar a proporção genômica e a distância genética entre genótipos segregantes.

## ABSTRACT

RAMOS, HELAINE CHRISTINE CANCELA, M.Sc. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; April of 2007; Improvement population of the papaya tree (*Carica papaya* L ) attended for microsatellites markers. Advisor: Messias Gonzaga Pereira. Comitee Members: Alexandre Pio Viana and Telma Nair Santana Pereira.

Although the easyness of cultivation facility and large consumption of papaya, the crop shows problems related to pests, diseases, agronomic characteristics and, mainly, reduced availability of better material for commercial exploration. In this context, the genetic improvement of papaya needs better use of classic methods, through the selection of agronomic better varieties and development of lines and/or hybrids with favorable commercial characteristics. To enssure the development of genetic materials really superior, the molecular markers have been widely used on genetic improvement, associated with conventional methods, reducing the time needed for the favorable of new materials for cultivation. One of the objectives of this study was to acquire informations about the influence of seasonality in the sexual expression in a segregating generation and in elite genotypes of papaya, doing a survey of the deformations (carpelloids and pentandrous flowers), and about the reversions occurred in hermaphrodite flowers during the evaluation time, as well as to consider some parameters and the genetic gain with the direct selection for some considerable characteristics on papaya improvement. The second objective of this study was to use microsatellites markers as a helpful tool on the selection of genotypes from

papaya's  $S_2$  generation monitoring homozygosity level and the proportion of recurrent genotype of genome inside the segregating population  $52RC_1S_1$ , besides to identify superior segregating individuals to evaluate as new varieties or hybrids genitors of papaya. The phenotypic results enabled to verify the existence of sexual expression alterations among evaluated genotypes when submitted to environmental changes. However, except NFHT and NFHE, all characteristics showed better expression during the summer. It was observed the existence of a great genetic variability inside the segregating treatments, revealed by high values of  $CV_g$  and  $H_2$ . Such variations occurred in function of the environmental conditions possibilizing happen in different periods. Moreover, it was possible to identify genotypes less sensible to environmental variation during the available period, so they are promising to the advance of the generations. Starting from the results of molecular analysis it was verified that the homozygosity level among 43 genotypes varied between 75% and 94%. When considering the three treatments separately, it was verified that the largest homozygosity level was in the family  $52RC_1S_2-08$ , followed by  $52RC_1S_2-34$  and  $52RC_1S_2-29II$ . On the other hand, fixing a homozygosity cut-off point in 87%, were selected around 44,2% of available individuals, with 11,6%, 11,6% and 21% belonging to  $52RC_1S_2-34$ ,  $52RC_1S_2-29II$  and  $52RC_1S_2-08$ , respectively. From a genetic distance matrix, created by UPGMA method, it was observed a mean distance of 0,68 among the 43 available genotypes, with numbers varying between 0,50 and 0,837. The distance observed between the parental genotypes was 0,86. Among the results of this study it was possible to conclude that the microsatellites markers showed efficiency to access the homozygosity level and discriminate the genomic proportion of segregating genotypes.

## 1. INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.), originário da América Central ou, mais precisamente Sul do México e Costa Rica, é uma das fruteiras mais cultivadas e consumidas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (Chen *et al.*, 1991). No Brasil esta cultura encontrou condições climáticas favoráveis para a sua exploração comercial, sendo amplamente produzido na região norte do Espírito Santo, sul da Bahia e Pará.

A importância econômica da família *Caricaceae* reside em grande parte na produção da fruta de *C. papaya* L., amplamente cultivado ao longo das regiões tropicais. Além do valor comercial da fruta madura e de seus produtos processados, o mamão também é cultivado, embora em menor extensão, para a extração de látex. As diferentes proteinases obtidas do látex extraído da fruta verde têm um largo espectro de atividade, e é usado amplamente nas indústrias farmacêuticas e de alimentos (Madrigal *et al.*, 1980). Seus frutos aromáticos, ricos em vitamina C, são utilizados amplamente em dietas alimentares pelo seu valor nutritivo e digestivo (Dantas *et al.*, 2002).

No Brasil, antes da introdução do mamoeiro do grupo 'Solo', praticamente não existia variedades comerciais para o plantio, visto que as sementes utilizadas apresentavam elevado grau de segregação, predominando o cultivo de mamoeiros dióicos comuns. A partir de 1976/77, a cultura retomou sua importância econômica, principalmente devido à introdução de cultivares do grupo 'Solo' e de híbridos do grupo 'Formosa' (Marin *et al.*, 1994). Esses cultivares e híbridos introduzidos no país tiveram grande aceitação tanto no mercado interno

quanto no externo, contribuindo para a expansão significativa da comercialização do fruto (Ruggiero, 1988).

Desde então, a oferta de novas variedades e híbridos comerciais de mamão não apresentou acréscimo significativo para a comunidade científica e, principalmente, para os produtores, tornando-se uma das principais limitações da cultura. Aliado a isso, em função dos altos preços praticados no mercado, muitos produtores optam por produzir suas próprias sementes, contribuindo para que sejam multiplicados e disseminados materiais genéticos de baixo padrão de qualidade (Alves, 2003). De acordo com Marin (2001), uma alternativa viável para resolver este problema, dentre outros, é recorrer à ampliação da base genética do mamoeiro, por meio de programas de melhoramento utilizando hibridações e estudos da capacidade combinatória.

Em pesquisa anterior realizada por Marin (2001), ficou comprovado que o genótipo 'Cariflora' apresenta excelente capacidade geral e específica de combinação quando cruzado com genótipos do grupo Solo. Contudo, em se tratando de um material dióico, não há como aproveitá-lo para o desenvolvimento de progenitores endogâmicos, uma vez que não é possível realizar autofecundação. Conseqüentemente, os híbridos resultantes são bastante heterogêneos. Sendo assim, com a introdução do alelo  $M_2$ , responsável pelo hermafroditismo no mamoeiro, seria possível melhor explorar o potencial genético do genótipo Cariflora para obtenção de cultivares e de híbridos uniformes.

Nesse sentido, com a finalidade de realizar, a longo prazo, a conversão sexual do genótipo Cariflora e obter linhagens e híbridos com alto grau de estabilidade, buscou-se com este trabalho obter informações sobre a influência da sazonalidade na expressão sexual em gerações segregantes e em genótipos elite de mamoeiro, bem como estimar parâmetros e o ganho genético com a seleção direta para algumas características relevantes no melhoramento do mamoeiro. Os marcadores microssatélites foram utilizados como ferramenta auxiliar na seleção em geração  $S_2$  de mamoeiro, realizando o monitoramento do nível de homozigose e da proporção genômica do genitor recorrente (Cariflora) dentro da população segregante  $52RC_1S_2$ , além de identificar segregantes superiores.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Aspecto econômico da cultura

O mamoeiro é uma das fruteiras mais cultivadas em quase todos os países da América tropical, tendo tornado-se, já no início do século XVIII, amplamente conhecido no oriente. O cultivo desta fruteira busca abastecer os mercados locais e exportação de frutas frescas e constitui também uma importante fonte de fornecimento de papaína, enzima proteolítica de ação semelhante a da pepsina e tripsina, empregada para os mais variados usos nas indústrias têxteis, farmacêutica, de alimentos e de cosméticos (Oliveira *et al.*, 1994).

O mamoeiro é uma planta cujo fruto tem grande importância econômica, alimentícia, social e possui ótima aceitação no mercado internacional. É uma das frutas mais apreciadas pelos consumidores brasileiros e além de sua grande importância econômica, deve ser ressaltada a sua função social, visto que devido ao fato de a sua produção ocorrer durante todo ano e a necessidade de renovação periódica dos seus pomares, sua produção absorve mão-de-obra regularmente, gerando muitos empregos (Oliveira *et al.*, 1994).

A cultura do mamão conquistou grande importância econômica para o país, aproximadamente, na década de 50, onde a região sudeste, mais precisamente os Estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro, se destacavam como os maiores produtores do país. Nessa região, a área cultivada chegava à cerca de 3.600 ha e a produtividade variava entorno de 8.700

frutos/há, isso correspondia a aproximadamente 32.000.000 frutos em toda região. Essa produtividade não atingia níveis mais altos devido a utilização de populações dióicas para plantação. Naquela época, utilizavam-se plantas dióicas para o cultivo do mamão que apresentavam frutos grandes e arredondados. Em decorrência desse tipo de população, os plantios eram compostos por cerca de 10% de plantas fornecedoras de pólen (plantas masculinas) e 90% de plantas que produziam flores femininas, em que cada planta produzia uma média de 30 frutos por ano (Alves, 2003).

Na década de 70 a cultura na região sudeste, mais precisamente na região do Morro Alto no Estado de São Paulo, sofreu com a chegada do vírus do mosaico e muitas plantações foram dizimadas devido à falta de manejo e a negligência por parte dos agricultores em relação às medidas de controle da doença. Desde então, uma característica que se tem verificado na sua exploração é o nomadismo, migrando de uma região para outra na tentativa de fuga do mosaico do mamoeiro, inegavelmente, o principal problema enfrentado (Ruggiero, 1988). Nessa busca por áreas livres da doença, a cultura encontrou no Estado do Espírito Santo e região Sul da Bahia condições favoráveis para a sua exploração. Hoje, essas regiões, junto com o Pará, destacam-se como as principais produtoras do país.

Em 1998, o Brasil já ocupava o primeiro lugar na produção mundial de mamão, apresentando uma produção de 1.700.000 toneladas, participando com 33,45% do total de frutos produzidos no mundo. Seguindo a lista dos países mais importantes na produção de mamão temos a Nigéria, México, Índia e Indonésia, participando com 14,78%, 9,80%, 8,85% e 6,61%, respectivamente. Neste ano, o Brasil produziu 48,57 ton/ha, alcançando a maior produtividade mundial com apenas 35.000 hectares, que é 185,71% superior à média mundial de 17,00 ton/ha (Ritzinger, 2000). Em relação às exportações, o Brasil ocupava nessa época o terceiro lugar com 9.878 toneladas, atrás de países como México e Malásia, responsáveis por 59.638 e 34.312 toneladas exportadas, respectivamente (Agrianual, 2002).

A exportação de mamão brasileiro, com destaque para o tipo papaya, mostra crescimento a cada ano. Segundo dados do Anuário Brasileiro de Fruticultura (2004), em 2003, as vendas para o exterior aumentaram 38% em relação ao ano anterior, com volume embarcado de 39.492.386 quilos. Porém, em

2004 este volume diminuiu para 35.929.623 quilos, que corresponde a uma queda de 9,02%, aproximadamente (BRAPEX, 2006).

No Estado do Espírito Santo o mamoeiro é uma das principais culturas da Região Norte e produz mais de 330.000 toneladas anuais. O cultivo gera uma renda bruta da ordem de R\$ 50 milhões anualmente e emprega cerca de 9.000 pessoas no processo de produção e comercialização, durante todo o ano. Nessa região, as condições climáticas favoráveis possibilitam sua exploração como atividade agrícola de grande rentabilidade e de grande importância econômica e social para o Estado (Ruggiero *et al.*, 2003).

## 2.2. Aspecto botânico

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma planta herbácea, nativa da América tropical pertence à classe *Dicotiledônea*, subclasse *Archiclamydeae*, ordem *Violales*, família *Caricaceae*. Até recentemente, a família *Caricaceae* compreendia 31 espécies distribuídas em três gêneros (*Carica*, *Jacaratia* e *Jarilla*) da América tropical e um quarto gênero, *Cylicomorpha*, da África equatorial (Nakasone e Paull, 1998). Contudo, uma revisão taxonômica mais recente propõe que algumas espécies classificadas no gênero *Carica* sejam classificadas no gênero *Vasconcella* (Badillo, 2002). Dessa forma, a classificação da família *Caricaceae* tem sido revisada para compreender *Cylicomorpha* e cinco gêneros das Américas do Sul e Central (*Carica*, *Jacaratia*, *Jarilla*, *Horovitzia* e *Vasconcella*) (Badillo, 1971), com *Carica papaya* L. sendo a única espécie dentro do gênero *Carica* (Badillo, 2002).

Os gêneros da família *Caricaceae* são nativos das regiões tropicais e subtropicais das Américas e da África, apresentando plantas arbustivas, provida de látex branco (Joly, 1993). O gênero *Carica* é diplóide com  $2n=2x=18$ , ou seja, número básico de cromossomos haplóides ou genoma  $n=9$  (Storey, 1941, citado por Dantas *et al.*, 2002).

O fruto do mamoeiro é uma baga de forma variável de acordo com o tipo de flor, podendo ser arredondado, oblongo, alongado, cilíndrico e piriforme. A casca é fina e lisa, de coloração amarelo-clara a alaranjada, protegendo uma polpa de 2,5 a 5,0 cm de espessura e de coloração que pode variar de amarela, rosada a alaranjada. Pode atingir 50 cm de comprimento e pesar até 1 quilo. As

sementes são pequenas, arredondadas, rugosas e recobertas por uma camada mucilaginosa, apresentando coloração de acordo com a variedade (Luna, 1980, citado por Dantas *et al.*, 2002).

## **2.2.1. Biologia floral**

### **2.2.1.1. Tipos florais**

As flores do mamoeiro têm sido classificadas de diferentes maneiras por diversos autores, devido à grande quantidade de formas florais que são observadas no campo. Porém, as flores do mamoeiro podem ser divididas, basicamente, em três tipos bem diferenciados: flor hermafrodita, que caracteriza as plantas hermafroditas; flor estaminada, que caracteriza plantas masculinas; e flor pistilada, que caracteriza uma planta feminina típica (Medina *et al.*, 1994).

Segundo Couto e Nacif (1999), na flor hermafrodita do mamoeiro podem ocorrer variações quando estas sofrem estímulos externos, principalmente devido a determinadas condições ambientais. Dessa forma, podem ser encontradas nas populações de plantas hermafroditas (população ginóica-andromonóica) flores do tipo carpelóide, pentândrica e estéril.

A carpeloidia é um tipo de deformação floral provocada pela transformação dos estames em carpelos durante o primeiro período de desenvolvimento da flor, de modo que carpelos normais, juntamente com o ovário, são supressos em vários graus de desenvolvimento, dando origem a frutos deformados, conhecidos como “cara de gato”, e impróprios para a comercialização (Couto e Nacif, 1999). De acordo com Awada e Ikeda (1957), citados por Nakasone (1980), condições de alta umidade no solo, baixas temperaturas e excesso de nitrogênio no solo favorecem a produção de frutos carpelóides, sendo a temperatura o principal fator.

Na flor hermafrodita pentândrica, as pétalas são soldadas e são inseridas na base do ovário, os estames ocorrem em número de 5 em vez de 10 conforme observado na flor hermafrodita típica ou alongada, daí a denominação pentândrica. Os frutos formados são arredondados, com cinco sulcos longitudinais profundos, caracterizando-os de modo inconfundível (Couto e Nacif, 1999).

A flor hermafrodita estéril de verão é encontrada em plantas hermafroditas durante os meses quentes do ano, daí ser conhecida como esterilidade de verão. Neste tipo floral, o pistilo se apresenta atrofiado, tornando-se não funcional, sendo a flor, neste caso, considerada essencialmente masculina e funcional, ou seja, ocorre a reversão do sexo de hermafrodita para masculina. Por esse motivo, ela não produz frutos, tornando-se assim, indesejável. Arkle Júnior e Nakasone (1984) constataram que o início da esterilidade ocorre durante a fase de diferenciação do ovário, geralmente seis a sete semanas antes da abertura das flores. O aborto do ovário é observado cerca de cinco semanas antes da antese e, portanto, durante a fase de completo desenvolvimento dos estames e uma semana antes do desenvolvimento completo do ovário.

#### **2.2.1.2. Populações com base na expressão do sexo**

Para fins práticos, com base em seus tipos florais, podemos distinguir três tipos de mamoeiro, a saber: feminino, masculino e hermafrodita. Quanto às populações, Souza (2000) e Marin e Gomes (1986) descrevem três tipos distintos de populações:

- **População dióica:** constituída por plantas com flores femininas e plantas com flores masculinas. Essa população é resultante de frutos obtidos do cruzamento entre plantas do sexo masculino e plantas do sexo feminino.

- **População ginóico-andromonóica:** constituída por plantas com flores femininas e plantas com flores hermafroditas (andromonóicas). As plantações de mamoeiros ginóico-andromonóicos são originárias dos cruzamentos entre plantas hermafroditas, que são capazes de se autofecundar, pois apresentam os órgãos masculino e feminino na mesma flor. Vale ressaltar, que em condições de campo, um mamoeiro hermafrodita pode não se autofecundar, podendo receber pólen de outro hermafrodita ou mesmo masculino (dióico) que estiver nas proximidades.

- **População andromonóica-trióica:** onde se encontram plantas com flores femininas, plantas com flores hermafroditas e plantas com flores masculinas.

### 2.2.1.3. Herança do sexo

A expressão sexual nas plantas está sob controle genético, sendo em mamoeiro, a genética do sexo um caráter de herança simples, ou seja monogênico, com três formas alélicas. *Carica papaya* L. possui três tipos ou formas sexuais: ginóica (com plantas exclusivamente femininas), andróicas (com plantas exclusivamente masculinas) e andromonóica (com plantas cujas inflorescências são hermafroditas) (Storey, 1953).

Em seu estudo sobre a herança do sexo, Storey (1953) mostrou que as plantas femininas são geneticamente homozigotas para o alelo  $m$  e as plantas masculinas e hermafroditas são heterozigotas para os alelos  $M_1$  e  $M_2$ , respectivamente, formando as combinações:  $mm$  (plantas femininas),  $M_1m$  (plantas masculinas),  $M_2m$  (plantas hermafroditas). O autor ainda relata em seu estudo que as combinações  $M_1M_1$  e  $M_2M_2$  não existem porque são letais zigóticos. Segundo Martins *et al.* (2003), o loco simplesmente herdado, na realidade, representa um complexo de muitos genes fortemente ligados, afetando características sexuais secundárias, como número de flores, comprimento do pedúnculo, supressão do crossing-over e letalidade.

Conforme descrito por Hofmeyr (1938), através da ação do vento, dos insetos ou do próprio homem, podem ocorrer os seguintes casos de cruzamentos, entre os três tipos de flores:

- **Flor Masculina x Flor Feminina:** nesse tipo de cruzamento as sementes produzidas poderão originar 50% de plantas masculinas e 50% de plantas femininas, aproximadamente. A manutenção do elevado percentual de plantas masculinas em uma lavoura comercial acarretará prejuízo ao produtor, que será tanto maior quanto for a área cultivada e o tempo em que esses mamoeiros permanecem competindo com os demais em água, luz e nutrientes.

- **Flor Hermafrodita x Flor Feminina:** as sementes obtidas desse cruzamento deverão dar origem a 50% de plantas hermafroditas e 50% de plantas femininas. Este tipo de cruzamento também não é desejável em plantios comerciais, devido à excessiva população de plantas femininas. Essas, embora produtivas, produzem frutos de formato arredondado a ovalado, cuja cavidade interna é grande em relação à espessura da polpa, característica que geralmente lhes confere menor valor comercial.

- **Flor Masculina x Flor Hermafrodita:** as sementes desse cruzamento normalmente produzirão uma geração de descendentes em uma proporção de aproximadamente 33% de plantas hermafroditas, 33% de plantas masculinas e 33% de plantas femininas. Esse tipo de cruzamento é indesejável em condições de cultivos comerciais, pois origina plantas masculinas improdutivas e plantas femininas com baixo valor comercial.

- **Flor Hermafrodita x Flor Hermafrodita:** nesse cruzamento serão produzidas sementes que deverão originar em torno de dois mamoeiros hermafroditas para um feminino. A grande vantagem deste tipo de cruzamento é a grande proporção de mamoeiros hermafroditas que, além de produtivos, produzem frutos de formato alongado, cuja cavidade interna é bem menor do que a dos frutos de mamoeiros femininos, o que lhes confere maior valor comercial.

As plantas ginóicas, andróicas ou andromonóicas só são possíveis de serem distingüidas durante a floração, quando estas apresentam aproximadamente quatro meses de idade. Na busca por diminuir ou sanar os custos com o processo de sexagem e aumentar o aproveitamento de plantas no campo, muitos estudos vêm sendo desenvolvidos com a finalidade de identificar precocemente o sexo do mamoeiro. Estudos citológicos (Datta, 1971), testes colorimétricos para conteúdo de fenol (Jindal and Singh, 1976), estudos com cromatografia e estudos com isoenzimas utilizando um padrão de peroxidases catiônicas (Paller, 1988 e Sriprasertsak *et al.*, 1988, citados por Magdalita e Mercado, 1997) são exemplos de trabalhos desenvolvidos como objetivo de distinguir as plantas de acordo com o sexo. Porém, apesar dos esforços direcionados à obtenção de métodos de determinação precoce do sexo em mudas de mamoeiro, nenhuma metodologia até hoje se mostrou eficaz em alcançar este propósito.

Estudos recentes da biologia molecular tem mostrado resultados satisfatórios relacionados à sexagem. Recentemente Urasaki *et al.* (2002) encontraram um marcador de DNA de 450 pares de bases em genótipos andróicos e andromonóicos de mamão. A partir deste fragmento, denominado PSDM (Papaya Sex Determination Marker), foi desenvolvido um marcador SCAR e os resultados obtidos sugerem fortemente que o PSDM esteja localizado na região do cromossomo que é específica para os genótipos andróicos e andromonóicos, não existindo em genótipos ginóicos. Esta informação abre

caminho para o desenvolvimento de novos trabalhos que possibilitem a sexagem precoce do mamoeiro.

#### **2.2.1.4. Fatores que influenciam a expressão do sexo em plantas**

A determinação do fenótipo sexual em plantas é bastante diversificado, variando de cromossomos sexuais em *Marchantia polymorpha* e *Silene latifolia*, a regulação hormonal em *Zea mays* e *Cucumis sativa* e troca feromonal entre indivíduos em *Ceratopteris richardii* (Tanurdzic *et al.*, 2004).

Atualmente é aceito que a determinação do sexo e o desenvolvimento dos órgãos sexuais durante o crescimento e desenvolvimento da planta podem ser determinados tanto pelo aparato genético (determinação genética do sexo) quanto pelos fatores ambientais (determinação ambiental do sexo) (Ainsworth *et al.*, 1998). Tooke *et al.* (2005) relatam que as causas da reversão sexual em flores e inflorescência podem ser de cunho ambiental e genético. Segundo estes autores, em espécies como *Boronia megastigma*, *Eucalyptus landowneana*, *Hardenbergia violácea*, entre outras, a reversão pode ser causada por mudanças bruscas de temperatura entre o dia e a noite, radiação solar, comprimento do dia, baixa temperatura durante a noite e baixa umidade. Já em *Arabidopsis thaliana*, *Lycopersicon esculentum* Mill, *Petunia hybrida* e *Zea mays* a reversão tem sido atribuída a fatores genéticos, principalmente a mutação.

Segundo Khryanin (2002), a expressão sexual das plantas é um processo complexo, controlado por diversos hormônios, sendo que as giberelinas e as citocininas têm apresentado papel mais importante nesse mecanismo fisiológico. Segundo o mesmo autor, as citocininas geralmente favorecem a ocorrência de flores femininas, enquanto as giberelinas favorecem flores masculinas, citando uma série de plantas em que esse comportamento foi observado: *Begonia hybridis*, *Cucumis sativus*, *Mercurialis annua*, *Zea mays* e *Buchloe dactyloides*. Ainda segundo o autor, há relatos opostos em que se afirma que as giberelinas favorecem flores femininas em mamona, mamão e kiwi. Em *Mercurialis*, as citocininas causam a conversão de masculino para feminino (Louis, 1989), enquanto em *Asparagus officinalis*, um efeito oposto tem sido observado (Bracale *et al.*, 1991). Frankel e Galun (1977) relatam a existência de pesquisas indicando que as giberelinas causam malformação de estames, tornando-os não-funcionais,

ou a malformação do ovário, mas acrescenta que tais efeitos não devem ser considerados como mudança na expressão do sexo.

No mamoeiro, estudos têm demonstrado que a determinação do sexo está sob controle genético, onde um gene com três formas alélicas determina as plantas femininas, masculinas e hermafroditas. Segundo Storey (1953), dois conjuntos independentes de fatores podem modificar a expressão do sexo em plantas masculinas e hermafroditas sob certas condições ambientais. Um grupo de fatores promove mudanças sazonais, suprimindo e induzindo o desenvolvimento do gineceu em plantas hermafroditas e masculinas, respectivamente, e posteriormente voltam a ser normais. Outro conjunto promove a carpeloidia dos estames, freqüentemente com fusão do pistilo.

De acordo com Arkle Júnior e Nakasone (1984), a carpeloidia e a esterilidade feminina iniciam-se durante a diferenciação dos estames e do ovário, respectivamente, geralmente oito a nove semanas antes da abertura das flores, quando o botão floral começa a se tornar visível na axila foliar do mamoeiro. Segundo Frankel e Galun (1977), em plantas hermafroditas estão presentes genes funcionais para ambos os tipos de órgãos florais, porém a determinação do sexo está também em função da sua expressão, que por sua vez depende do tempo e local em que agirão, resultando em um tipo específico de morfogênese. Nesse contexto, há de se considerar que a interação genótipo x ambiente é um fator primordial na determinação do sexo em plantas, sendo o comprimento do dia, temperatura, luz, disponibilidade de nutrientes e mudanças de estação os estímulos mais notáveis nesta expressão (Samach e Wigge, 2005).

Awada e Ikeda (1957), citados por Nakasone (1980), constataram que, condições de alta umidade no solo, baixas temperaturas e excesso de nitrogênio no solo favorecem a produção de frutos carpelóides. Nakasone (1980) acrescenta que mudanças bruscas na temperatura, que também podem ocorrer nos meses mais quentes, levam a expressão da carpeloidia. Ainda segundo o autor acima, sob condições de altas temperaturas, estresse hídrico e baixo teor de nitrogênio no solo, flores hermafroditas normais do mamoeiro tendem a abortar o ovário, tornando-se estéreis.

Embora os mamoeiros adultos não necessitem de água tão criticamente como as plantas jovens, é importante que disponham de umidade a todo tempo. Assim, a importância da água se relaciona tanto à sua falta quanto ao seu

excesso. A restrição hídrica, além de reduzir o crescimento da planta, favorece a produção de flores masculinas e estéreis, reduzindo a produção de frutos. Por outro lado, o excesso de água na região em torno da raiz da planta diminui a aeração e afeta a absorção de nutrientes, aumenta o aparecimento de doenças, além de possibilitar a lixiviação dos nutrientes (Medina *et al.*, 1980).

### **2.3. Melhoramento genético do mamoeiro**

Segundo Pereira *et al.* (2006), normalmente ao se iniciar um programa de melhoramento genético de determinada cultura, é necessário conhecer a diversidade genética existente para melhor explorar essas diferenças genéticas. Nesse sentido, Storey (1953) relata que existe uma grande diversidade de tipos de mamoeiro no mundo, com características aproveitáveis em um programa de melhoramento. Contudo, existem poucas linhagens realmente melhoradas ou mesmo consideradas como variedades definidas, em função da propagação de plantas por sementes, durante sucessivas gerações, sem o devido controle das polinizações.

O melhoramento genético do mamoeiro em diversas partes do mundo está voltado basicamente para a obtenção de cultivares endógamos com características específicas, visando atender as demandas do mercado consumidor. A não exploração do vigor híbrido, de modo geral, parece ser consequência de insuficientes investigações sobre os efeitos da heterose no mamoeiro (Sampaio *et al.*, 1983).

No Brasil, antes da introdução do mamoeiro tipo Solo, praticamente não existiam variedades comerciais para plantio, visto que as sementes utilizadas apresentavam elevado grau de segregação devido à exclusiva existência de cultivares dióicas. Até fins dos anos 70 predominavam no Brasil cultivos de mamoeiros dióicos ou comuns e o Estado de São Paulo destacava-se como principal produtor, porém a ocorrência do vírus do mosaico-do-mamoeiro, na região de Morro Alto - SP, determinou a migração da cultura para outros Estados (Marin e Ruggiero, 1988).

Atualmente os programas de melhoramento genéticos do mamoeiro no Brasil visam desenvolver variedades e/ou híbridos resistentes a doenças, agregando características agrônomicas desejáveis, como ausência de flores

hermafroditas estéreis e de flores hermafroditas carpelóides e pentândricas, frutificação precoce e vigorosa, altura da frutificação inicial inferior a 90 cm, entre outras. Além disso, precisam também conduzir a um acréscimo da variabilidade genética e, conseqüentemente, elevar a base genética da espécie. Com isso, aumenta a possibilidade de obter ganho genético por seleção, aumentando também a chance de se chegar mais rápido a variedades e híbridos que possam ser utilizados pelos agricultores (Rodríguez, 1998).

Por outro lado, deve ser considerado que o melhoramento genético do mamoeiro pode contribuir substancialmente para uma maior produtividade. Este objetivo pode ser alcançado mediante aplicação de métodos de melhoramento e seleção de variedades com rendimentos superiores, bem como através da obtenção de linhagens ou híbridos com resistência a doenças e pragas, o que certamente contribuirá de maneira decisiva na tecnologia de produção, limitada em grande escala pela ampla incidência e distribuição de doenças viróticas (Harkness, 1967; Ishii e Holtzmann, 1963).

Embora o Brasil seja o maior produtor mundial, toda a área de produção comercial é implantada quase que exclusivamente com três cultivares integrantes de dois grupos (Grupo Solo, Grupo Formosa e Dióicos), discriminados em função dos tipos de frutos. Além do problema inerente a esta estreita base genética, o que implica vulnerabilidade às doenças, pragas e variações edafoclimáticas, o elevado preço e a dificuldade de obtenção de sementes do híbrido F1 comercial do grupo Formosa também constituem fatores limitantes à expansão da cultura (Oliveira *et al.*, 1994).

Portanto, evidencia-se a necessidade de fortalecer os programas de melhoramento genético, que com objetivos a curto, médio e longo prazo, contribuam na ampliação da base genética atual, gerem variedades com tolerância ou resistência as principais doenças como o vírus da mancha anelar e meleira, além de apresentarem características agronômicas desejáveis, visando satisfazer as exigências do mercado interno e externo (Pérez, 2004).

#### **2.4. Parâmetros genéticos no melhoramento de plantas**

Segundo Cockerham (1956), citado por Rodríguez (1998), a estimação dos parâmetros genéticos em populações é necessária para obter informações sobre

a natureza da ação dos genes envolvidos na herança dos caracteres sob investigação, estabelecer a base para a escolha dos métodos aplicáveis à população. Assim, é possível avaliar a eficiência das diferentes estratégias de melhoramento pela obtenção de ganhos genéticos preditos e manutenção de uma base genética adequada.

Os parâmetros genéticos podem ser obtidos a partir da análise de variância dos dados, realizadas conforme delineamentos genéticos pelos quais estimam-se os componentes de variância genética de uma população. Segundo Cruz e Carneiro (2003), um delineamento genético é qualquer sistema de cruzamento planejado, estabelecido de forma que se conheça a relação de parentesco entre indivíduos ou grupos de indivíduos, sendo exemplos os delineamentos I e II de Comstock e Robinson, os dialelos e os ensaios de famílias.

De acordo com Cruz e Carneiro (2003), os parâmetros genéticos mais importantes são as variâncias genéticas aditiva e não-aditiva, as herdabilidades e as correlações. Fisher (1918), citado por Furtado (1996), foi quem primeiro repartiu a variação genotípica em: variância genética aditiva - atribuída aos efeitos médios dos genes; variância devida aos desvios da dominância - resultante de interações entre alelos de um mesmo loco; e variância epistática - atribuída a interações alélicas entre diferentes locos. Informações a respeito da magnitude da variância aditiva e da atribuída aos desvios de dominância, negligenciando-se a de natureza epistática, possibilitam a avaliação da potencialidade da população para o melhoramento e facilitam as decisões de escolha do método de seleção mais eficiente a ser empregado (Falconer, 1987).

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

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

Outro parâmetro de grande utilidade para um programa de melhoramento é a estimativa da herdabilidade, pois ela permite antever a possibilidade de sucesso com a seleção, uma vez que reflete a proporção da variação fenotípica que pode ser herdada (Ramalho, 2000). A herdabilidade pode ser definida como a fração do diferencial de seleção que se espera ganhar quando a seleção é praticada sobre uma unidade de seleção definida, podendo ser usada no sentido amplo ou no restrito. No primeiro caso considera-se a variabilidade genética total em relação à fenotípica, já a herdabilidade no sentido restrito, considera apenas a porção aditiva da variação genética em relação à fenotípica, ou seja, a fração das diferenças fenotípicas entre os pais que se espera recuperar entre os descendentes.

A herdabilidade no sentido restrito é mais útil nos programas de melhoramento do que a no sentido amplo, pois quantifica a proporção aditiva da variância genética que pode ser transmitida para a próxima geração, sendo a herdabilidade no sentido amplo importante no caso de plantas de propagação vegetativa, onde o genótipo é herdado integralmente pelos descendentes (Borém, 2005).

A correlação também constitui em um parâmetro muito importante em um programa de melhoramento, uma vez que a associação entre caracteres é um fator muito freqüente na natureza. De acordo com Cruz e Regazzi (2001), a correlação fenotípica pode ser mensurada diretamente de dois caracteres em uma população com certo número de indivíduos. Ainda segundo estes autores, essas correlações tem causas genéticas e ambientais, porém só as genéticas envolvem uma associação de natureza herdável, podendo ser usada na orientação de programas de melhoramento. O estudo das correlações é de grande importância, pois permite quantificar a magnitude e direção da influência de uma determinada característica sobre outra, visto que em um programa de

melhoramento objetiva-se aprimorar os genótipos não para caracteres isolados, mas para um conjunto de caracteres simultaneamente, (Cruz e Regazzi, 1997; Vencovsky, 1978)

#### **2.4.1. Ganho genético**

Um das grandes contribuições da genética quantitativa ao melhoramento é a possibilidade de prever o avanço genético, conseguido pelo uso de técnicas seletivas. Informações sobre o ganho permitem avaliar a eficiência dos métodos de melhoramento, bem como o êxito do material melhorado (Cruz e Regazzi, 2001).

Soares *et al.* (2005) relataram que o estabelecimento da estimativa do ganho genético é altamente importante para o melhoramento de plantas, pois permite a avaliação da eficiência de um programa no desenvolvimento de novas linhas e mais precisamente em novas estratégias que garantam o sucesso do melhoramento para conduzir populações segregantes e estabelecer novos cultivares.

A seleção baseada em uma única característica pode acontecer de forma direta ou indireta, sendo que a primeira é caracterizada pela seleção de indivíduos superiores para a característica em análise e a segunda pela seleção de características de alta herdabilidade e fácil mensuração, correlacionados com a característica principal, quando esta apresenta baixa herdabilidade ou é de difícil mensuração (Falconer, 1987).

A seleção combinada constitui-se em uma alternativa de seleção onde se identificam genótipos superiores não só a partir de informações do indivíduo, mas também de sua família. Por outro lado, a seleção, quando baseada em uma única característica, pode acarretar mudanças indesejáveis em outros caracteres importantes, devido à associação entre eles. Assim, para que um material genético seja superior é necessário que este reúna simultaneamente uma série de qualidades, por isso um trabalho de melhoramento genético deve ser voltado para vários atributos (Cruz e Carneiro, 2003).

A utilização de marcadores moleculares associados a alguns métodos de melhoramento pode assegurar e até incrementar o ganho genético em alguma etapa da sua execução. Exemplo disso são os programas de melhoramento

genéticos que lançam mão do método de seleção recorrente assistido por marcadores. Através do estudo de divergência genética é possível identificar os genótipos mais divergentes, realizar combinações entre eles, mantendo uma adequada variabilidade genética e elevando a frequência de alelos favoráveis na população, e acompanhar a introgressão do gene (Pereira, 2006; Gabriel, 2004).

## **2.5. Cultivares e híbridos comerciais**

Dos problemas relacionados à cultura do mamoeiro no Brasil, deve ser ressaltado a limitação de alternativas quando da escolha de cultivares e/ou híbridos comerciais para o plantio que atenda as exigências dos mercados interno e externo. Vale destacar que a cultivar mais plantada, 'Sunrise Solo', tem o seu rendimento limitado de 40 a 60 t ha<sup>-1</sup>, sendo bastante susceptível ao vírus do mosaico, com frutos de casca comumente apresentando sintomas da mancha fisiológica, além da polpa ser pouco consistente para a exportação (Martins e Costa, 2003). Antes da introdução do mamoeiro do grupo Solo, praticamente não existiam cultivares comerciais para plantio, pois as sementes utilizadas apresentavam elevado grau de segregação devido à exclusiva existência de cultivares dióicas (Marin, 2001).

De acordo com Dantas (2000), a cultura do mamoeiro sustenta-se em uma base genética estreita, limitando o número de cultivares plantadas nas principais regiões produtoras. De modo geral, conforme o tipo de fruto, as cultivares mais plantadas no Brasil são classificadas em dois grupos: Solo (ex.: 'Sunrise Solo' e 'Improved Sunrise Solo Line 72/12') e Formosa ('Tainung n° 1'), sendo as linhagens pertencentes ao grupo Solo as mais cultivadas no mundo. Ainda, segundo esse autor, as variedades do grupo Formosa são mais adequadas à comercialização no mercado interno, enquanto que as do grupo Solo são comercializadas no mercado interno e externo.

Nesse contexto, vale ressaltar que a cultivar Golden, uma mutação do 'Improved Sunrise Solo Line 72/12', encontra-se bastante difundido nas regiões Norte do Espírito Santo e Sul da Bahia, com produtividade média em torno de 90 t ha<sup>-1</sup>ano<sup>-1</sup> (Costa e Pacova, 2003).

Na expectativa de buscar soluções às limitações quanto a escolha de genótipos para o plantio, a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy

Ribeiro (UENF) estabeleceu a partir de 1996 um programa de melhoramento genético do mamoeiro. Esse programa tem como principal objetivo o desenvolvimento de genótipos superiores, capazes de contribuir substancialmente com o agronegócio do mamão. Com a parceria da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO) e da empresa CALIMAN Agrícola e o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), o programa tem gerado excelentes resultados, culminando em 2002, no registro de nove híbridos de mamão junto ao Ministério da Agricultura (Pereira *et al.*, 2003) e no lançamento do primeiro híbrido nacional do grupo 'Formosa' ('UENF/Caliman 01'), em 2003.

De acordo com Marin (2001), a variedade 'Cariflora', inserida no programa de melhoramento do mamoeiro da UENF e pertencente ao grupo dióico, é um material que apresenta excelente capacidade geral e específica de combinação (CGC e CEC), para quase totalidade das características morfoagronômicas avaliadas, em cruzamentos com cultivares do grupo Solo. Essa variedade em combinações híbridas com cultivares do grupo 'Solo' apresentou maior peso, número e produção total de frutos. Além disso, baseado em estudos realizados na Florida, o "Cariflora" é considerado um genótipo portador de um alto grau de tolerância ao papaya ringspot vírus (Conover *et al.*, 1986). Dessa forma, esse material apresenta-se como promissor para geração de híbridos. Porém, os híbridos gerados são bastante desuniformes, pelo fato de esse genótipo não possibilitar autofecundações.

Logo, é bastante justificável e importante para o programa de melhoramento, citado anteriormente, o intento proposto no projeto intitulado "Conversão sexual em genótipo elite de mamoeiro (*Carica papaya* L.) assistido por marcadores de DNA", que busca a introdução do alelo  $M_2$ , responsável pelo hermafroditismo no mamoeiro, possibilitando melhor explorar o potencial genético do genótipo 'Cariflora' para obtenção de cultivares e de híbridos uniformes. Com essa iniciativa, pretende-se obter o genótipo 'Cariflora' com potencial genético para produzir flores hermafroditas e, conseqüentemente, possibilitar sua autofecundação, evento necessário para a geração de linhas puras.

## 2.6. Marcadores moleculares x melhoramento de plantas

Os marcadores moleculares são ferramentas da engenharia genética mais explorada pelo melhoramento genético. Desde seu desenvolvimento, os marcadores moleculares vêm sendo constantemente modificados para aumentar sua utilidade e trazer automação para o processo de análise genômica. Essas ferramentas vieram auxiliar as estratégias de melhoramento, por serem capazes de aumentar a velocidade de resposta nos programas. Além disso, podem contribuir significativamente para o conhecimento básico da cultura e do caráter estudado para a geração e desenvolvimento de produtos melhorados (Ferreira e Grattapaglia, 1995).

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

Os diferentes tipos de marcadores moleculares hoje disponíveis diferenciam-se pela tecnologia utilizada para revelar a variabilidade ao nível de DNA e assim variam de acordo com a habilidade de detectar diferenças entre os indivíduos, custos, facilidade de uso, consistência e repetibilidade. Sendo assim, os principais tipos de marcadores podem ser classificados em dois grupos, conforme a metodologia utilizada para identificá-los: hibridização ou amplificação de DNA. Dentre os que são identificados por hibridização estão os marcadores RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), os minissatélites ou locos VNTR (Variable Number of Tandem Repeats). Já aqueles revelados por amplificação do DNA são do tipo RAPD (Random Amplified Polimorphic DNA), SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions), STS (Sequence Tagged Sites), Microssatélites e AFLP (Amplified Fragment Length Polimorphism) (Milach, 2006).

As aplicações dos marcadores moleculares em estudos genéticos e no melhoramento de plantas são inúmeras. Têm sido usados para sinalização de genes de resistência a doenças e pragas; avaliação e caracterização de

germoplasma; melhoramento dos progenitores de híbridos; introgressão gênica e seleção auxiliada por marcadores; determinação de grupos heteróticos e associação com regiões genômicas que afetam a heterose; elaboração de mapas genéticos de ligação; reconstituição de pedigrees; testes de pureza genética; estudos de interação genótipo-ambiente; mapeamento de QTLs (locos de características quantitativas); seleção assistida por marcadores; entre outros (Ferreira e Grattapaglia, 1998; Milach, 1998).

Com base na seleção de genótipos, os marcadores moleculares também são eficientemente aplicados em programas de seleção recorrente, onde o estudo da diversidade genética da população permite a identificação dos genótipos mais divergentes. Dessa forma, proporcionará a recombinação desse grupo de genótipos para assegurar a manutenção da variabilidade genética da população e garantir que se alcance um maior ganho genético com o programa (Pereira, 2006; Gabriel, 2004).

Nos programas de melhoramento do mamoeiro, os marcadores moleculares vêm sendo empregados com diversas finalidades. Cattaneo *et al.* (1999) avaliaram a divergência entre nove genótipos de mamoeiro, utilizando marcadores RAPD, e encontraram ampla divergência genética entre os genótipos do grupo 'Formosa' e 'Solo', sendo os resultados utilizados na seleção de progenitores para cruzamentos visando a exploração da heterose.

Cattaneo (2001), avaliando a divergência genética em mamoeiro, utilizou 22 genótipos, aplicando os marcadores RAPD e AFLP. Ele detectou ampla divergência entre os dois grupos de mamoeiros analisados, especialmente entre aqueles do grupo 'Solo' e do grupo 'Formosa'. Além disso, verificou que o marcador AFLP é mais consistente, possibilitando a detecção de maior divergência entre os genótipos pertencentes aos dois grupos citados acima.

Também tem sido utilizado no programa de retrocruzamento via seleção assistida por marcadores, visando a conversão sexual do genótipo Cariflora do tipo dióico para hermafrodita. Os marcadores moleculares RAPD tiveram papel importante na pesquisa sobre a conversão sexual, ao permitir que a cada ciclo fosse recuperada uma proporção do genoma recorrente. Essa estratégia permite uma avaliação precisa das alterações genéticas, pois elimina a avaliação das variações causadas pelo ambiente (Silva, 2006).

Segundo Guimarães e Moreira (1999), além de monitorar a presença do gene de interesse, a genotipagem dos indivíduos com marcadores moleculares permite a seleção de indivíduos mais semelhantes ao genitor recorrente e com melhor conversão na região próxima ao gene introduzido. Desse modo, o número de ciclos de retrocruzamentos necessário para a recuperação do fenótipo recorrente é reduzido de forma acentuada, acelerando o desenvolvimento de variedades melhoradas.

Sondur *et al.* (1996), usando marcadores RAPD em uma população F<sub>2</sub> proveniente do cruzamento entre as linhagens havaianas UH 356 x Sunrise, construíram um mapa de ligação genética de *Carica papaya* L. com 11 grupos de ligação, compreendendo 999.3 cM do genoma do mamoeiro, de um total estimado em 1350 cM. O 'screening' de 596 *primers* possibilitou a identificação de 96 locos polimórficos. Aproximadamente 80% dos marcadores segregaram de acordo com as leis básicas de Mendel. De acordo com os autores, os resultados demonstraram a utilidade dos marcadores RAPD para o desenvolvimento de um mapa de ligação genética em mamão. Esse estudo também possibilitou o mapeamento do loco SEX1 ligado ao sexo do mamoeiro.

De acordo com Serafim *et al.* (2002), a utilização de técnicas moleculares na obtenção de DNA fingerprinting para a caracterização de cultivares oferece uma elevada precisão, pois acessa a variabilidade diretamente ao nível de DNA e permite a obtenção de grande número de descritores não influenciados pelo ambiente e estágio de desenvolvimento da planta.

De fato, os marcadores têm sido recentemente utilizados com sucesso para muitas plantas cultivadas, inclusive para mamão. Nesta cultura, marcadores SCAR já foram desenvolvidos para tratar especificamente da sexagem do mamoeiro, uma vez que somente frutos provenientes de plantas hermafroditas são de interesse econômico (Urasaki *et al.*, 2002). A partir de marcas RAPD clonadas e seqüenciadas foram desenvolvidos marcadores SCAR capazes de caracterizar plantas hermafroditas e masculinas. Porém, estas informações ainda não têm sido utilizadas em larga escala para a triagem da sexagem das mudas devido à inviabilidade da análise via SCAR para grandes quantidades de plântulas.

### 2.6.1. Aplicações do marcador microssatélites no melhoramento

Segundo Guimarães e Moreira (1999), os genomas de eucariotos apresentam várias classes de seqüências repetidas e uma delas consiste de repetições em *tandem* de pequenas seqüências de 1 a 4 nucleotídeos, denominadas microssatélites ou SSR (Simple Sequence Repeats). Ainda segundo os autores, os microssatélites são seqüências freqüentes e distribuídas ao acaso no genoma, sendo amplamente utilizadas na construção de mapas genéticos.

Os microssatélites são marcadores codominantes, ou seja, ambos os alelos de um indivíduo heterozigoto são visualizados. Além disso, o que distingue este marcador dos demais é a sua natureza multi-alélica numa população, onde potencialmente todos os alelos de um determinado loco podem ser detectados e discriminados. Possuem alta reproducibilidade, com grande abundância e ampla distribuição no genoma. O alto grau de polimorfismo se deve ao número de vezes que estas seqüências se repetem, gerando polimorfismo pelo tamanho dos fragmentos amplificados por *primers* específicos para as regiões que flanqueiam estas repetições (Serafim *et al.*, 2002). No entanto, para sua utilização é necessário o desenvolvimento prévio das seqüências (*primers*) específicas para a espécie a ser trabalhada (Ferreira e Grattapaglia, 1998). Mesmo diante desta limitação da tecnologia dos microssatélites, as suas vantagens são bastante atrativas, tornando este marcador freqüentemente requisitado para os trabalhos de biologia molecular.

Todas essas características reunidas contribuem para que os microssatélites sejam marcadores ideais para o mapeamento genético e físico de genomas, para a identificação e discriminação de genótipos e estudos de genética de populações, além de permitir a obtenção de informações entre diferentes locos, tornando possível a avaliação do nível de polimorfismo de uma população (Ferreira e Grattapaglia, 1995). Serafim *et al.*(2002) salientam que as aplicações dos marcadores microssatélites se estendem ainda à identificação de cultivares, reconstituição de pedigrees, identificação de duplicatas e “fingerprint”.

Com o advento do emprego de marcadores moleculares como complemento à caracterização morfológica de germoplasmas, os marcadores microssatélites têm sido amplamente aplicados para caracterização e avaliação

de germoplasmas de diversas espécies. Creste *et al.* (2002) utilizou este marcador para caracterizar o germoplasmas de espécies do gênero *Musa*, devido a sua natureza codominante e multi-alélica, ele é capaz de detectar o nível de ploidia dentro e entre as espécies, contribuindo para caracterização dos recursos genéticos existentes.

Sharon *et al.* (1992) utilizaram análise de microssatélites e minissatélites em trabalhos de análise genética e de identificação e caracterização entre e dentro de espécies de *Carica*. Os resultados mostraram que esta técnica foi uma ferramenta útil na identificação de espécies e de cultivares, podendo ser usada também na identificação de híbridos específicos e interespecíficos.

Parasnis *et al.* (1999) empregaram sondas de microssatélites e de minissatélites altamente informativa para identificar diferenças sexo-específica em papaya. Segundo eles, somente a sonda de microssatélite (GATA)<sub>4</sub> demonstrou diferenças sexo-específica em todas as cultivares analisadas, identificando o sexo masculino. O diagnóstico potencial desses marcadores microssatélite foi explorado para determinação do sexo de plantas de mamoeiro ainda no estágio inicial de desenvolvimento.

Serafim *et al.* (2002), em seu programa de melhoramento genético de videira, utilizaram os marcadores microssatélites para obter proteção intelectual e aferição da identidade genotípica de algumas cultivares de uva. Com esse estudo foi possível confirmar a identidade genotípica de dois cultivares, permitindo a padronização da nomenclatura das mesmas. Além disso, foi criado o perfil molecular da cv BRS Cora, sendo possível distingui-la das demais, permitindo rastrear a identidade genética do cultivar, certificar mudas e garantir a propriedade intelectual do material.

Faleiro *et al.* (2004) realizaram um estudo da variabilidade genética do cacaueteiro, utilizando marcadores microssatélites para avaliar a diversidade genética em 30 acessos de *T. cacao*, selecionados para resistência à vassoura-de-bruxa. Os resultados mostraram que os marcadores microssatélites são ferramentas confiáveis para estudo de divergência genética, pois disponibilizam para os pesquisadores dados claros, de fácil distinção e interpretação, além de serem reproduzíveis.

Uma outra aplicação dos marcadores microssatélites amplamente verificado na literatura tem sido o estudo da estrutura de populações. Gao *et*

*al.*(2002), em sua avaliação da estrutura genética de populações de arroz, utilizaram os marcadores microssatélites e aloenzimas. Com o resultado do estudo, os autores puderam verificar que os microssatélites apresentaram nível muito alto de diversidade genética. Além disso, os microssatélites foram mais eficientes do que as aloenzimas em detectar a diferenciação genética na população estudada. Com esses resultados os autores puderam sugerir que os marcadores microssatélites são uma ferramenta poderosa e de alta resolução para avaliação de características importantes da biologia de populações.

### **3. TRABALHOS**

### **3.1. INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE NA EXPRESSÃO SEXUAL DO MAMOEIRO CULTIVADO NO NORTE DO ESPÍRITO SANTO**

### 3.1.1. RESUMO

O aparecimento de tipos florais indesejáveis em um plantio comercial resulta na formação de frutos deformados e sem valor, diminuindo a produtividade da lavoura. A disponibilidade de variedades que sejam menos sensíveis à influência da sazonalidade na expressão sexual diminuiria a flutuação da produção que ocorre durante o ano, permitindo ao produtor maior chance de êxito na exploração da cultura. Nesse sentido, objetivou-se neste trabalho obter informações sobre a influência da sazonalidade na expressão sexual em gerações segregantes e em genótipos elite de mamoeiro, realizando um levantamento das deformações (carpelóides e pentândricas), e das reversões ocorridas em flores hermafroditas durante o período de avaliação, bem como estimar alguns parâmetros e o ganho genético com a seleção direta para algumas características relevantes no melhoramento do mamoeiro. Neste trabalho foram avaliadas, em média, 250 plantas hermafroditas dos tratamentos segregantes 16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, RC<sub>2</sub> e 72/12 X RC<sub>1</sub>, derivados do cruzamento inicial entre o genótipo dióico 'Cariflora' (genitor recorrente) e a variedade elite 'Sunrise Solo 783' (genitor doador do alelo  $M_2$ ). A avaliação consistiu na contagem do número de flores totais (NFHT), número de flores deformadas (NFHD), número de flores estéreis (NFHE) e número de flores normais (NFHN), representadas pelas alongadas, número de frutos totais (NFrT), número de frutos carpelóides (NFrC), número de frutos pentândricos (NFrP) e número de frutos comerciais (NFrCo). As avaliações foram feitas no final de cada estação. Os resultados possibilitaram verificar a existência de grande influência das variações

ambientais na expressão dos caracteres avaliados, contudo, com exceção do NFHT e NFHE, todas as características tiveram sua maior expressão durante o verão. Verificou-se também a existência de grande variabilidade genética dentro dos tratamentos segregantes, revelado pelos altos valores do  $CV_g$  e  $H^2$ , tendo o mesmo variado em função das condições ambientais, possibilitando realizar seleção em diferentes épocas. No entanto, com base nesses resultados pode-se inferir que a expressão de todas as características durante o inverno e a primavera é determinada mais por fatores genéticos do que ambientais, sendo então essas épocas indicadas para realizar a seleção. Com base nas estimativas das correlações genéticas observa-se que apenas seis das vinte e oito combinações possíveis entre os oito caracteres avaliados foram significativas ao nível de 1% e 5% de probabilidade, e cinco apenas a 5% de probabilidade. Quanto a estimativa de ganho genético, verificou-se altos valores entre os diferentes tratamentos avaliados para os três atributos indicados, revelando grande possibilidade de seleção de genótipos superiores, apresentando alta produção e baixos níveis de deformação do fruto e de reversão sexual.

### 3.1.2. ABSTRACT

The appearance of floral types undesirable in a commercial farming results in the formation of deformed fruits and without value, reducing its productivity. The availability of varieties that are less sensitive to seasonality in the sexual expression would decrease the instability of the production that occur along all year, allowing to the producer biggest possibility of success. The objective of this study was get information about the seasonality influence at sexual expression in segregating generations and in elite genotypes of papaya, making a survey of the deformations (carpelloids and pentandrous) and of the reversions occurred in hermaphrodites flowers during the evaluating period, as well as to order some parameters and genetic direct gain with the selection for some considerable characteristics in its improvement. In this study were evaluated around 250 hermaphrodites plants related to the segregant treatments: 16RC1S1, 52RC1S1, 115RC1S1, RC2 and 72/12 X 4RC1, derived from an initial crossing between the "Cariflora" genotype (recurrent genitor) and the elite variety "Sunrise Solo 783" (donor genitor). The evaluation consisted of: number of total flowers (NFHT), number of deformed flowers (NFHE) and number of normal flowers (NFHN). It was represented by elongates, number of total fruits (NFrT), number of carpelloids fruits (NFrC), number of pentandrous fruits (NFrP) and number of commercial fruits (NFrCo). The evaluation was carried out at the end of each season. Results showed the large environmental variation influence on expression of the characters, except for NFHT and NFHE, all characters had larger expression on summer. It was verified the existence of great genetic variability on the segregants

treatments. It was demonstrated by high values of  $CV_g$  and  $H^2$ , which occurred in function of the environmental conditions, making possible to carry on selection in different periods. However, based on results, can be inferred that the expression of all characteristics during winter and spring is determined more by genetic factors than environmental factors ones being then those suitable times to accomplish selection. Based on estimates of genetic correlations, it was observed only six of the 28 possible combinations between the eight evaluated characters, were significant to the level of 1 and 5% of probability, and only five were significant at 5% of probability. In relation of the estimate of genetic profit, it was verified high values between the different treatments evaluated for the three indicated attributes, revealing great possibility of selecting superior genotypes, presenting high production and low level of fruit deformation and sexual reversion.

### 3.1.3. INTRODUÇÃO

A importância da cultura do mamoeiro é crescente no Brasil, sobretudo nas regiões Sudeste e Nordeste, tanto pelo volume comercializado quanto pelo número de propriedades em que é estabelecida. Entretanto, o entendimento da biologia reprodutiva e de suas flutuações é determinante para o sucesso da cultura, uma vez que no Brasil, o fruto produzido comercialmente é desenvolvido a partir de flores hermafroditas, e estas dependem da estabilidade da expressão do sexo na planta (Storey, 1953). Além disso, esse tipo de flor é influenciado por diversos mecanismos que estão envolvidos no processo de reprodução das plantas, incluindo aspectos ambientais, fisiológicos e genéticos (Ainsworth et al., 1998).

*Carica* é o único gênero da família *Caricaceae* que possui espécie domesticada. *Carica papaya* L. é a única espécie dentro desse gênero, e possui grande interesse comercial e econômico, com produção de frutos comestíveis (Aradhya et al., 1999; Badillo, 2002). Suas plantas podem existir em três formas sexuais básicas: estaminada ou masculina, hermafrodita e pistilada ou feminina. Todas essas formas, com exceção da feminina, que é uma forma mais estável, variam a expressão sexual quando se encontram em condições ambientais adversas (Storey, 1953). Segundo este último autor, a reversão sexual sazonal acontece em ambas as flores masculinas e hermafroditas na mesma época, porém em direções diferentes.

Segundo Storey (1953), existem dois grupos de fatores que pode modificar a expressão de flores hermafroditas e masculinas sob certas condições

ambientais. Um grupo causa a troca sazonal da fertilidade feminina pela esterilidade feminina, onde a flor hermafrodita é transformada em masculina, se tornando incapaz de produzir frutos. Arkle Júnior *et al.* (1984) relatam que este fenômeno ocorre geralmente devido a condições de temperaturas elevadas, normalmente encontradas durante os meses de verão. Por esse motivo, essa transformação da flor hermafrodita é conhecida também como esterilidade de verão. Um outro grupo de fatores causa a transformação dos estames em carpelos, normalmente com fusão no pistilo. Esse tipo de deformação floral, também conhecido como carpeloidia, ocorre em condições oposta ao que leva a esterilidade feminina, ou seja, maiores altitudes e menor temperatura mínima aumentam a frequência desse tipo.

O aparecimento dessas flores imperfeitas é indesejável em um plantio comercial, uma vez que produzem frutos deformados e sem valor, diminuindo a produtividade da lavoura. A disponibilidade de variedades que sejam menos suscetíveis à influência da sazonalidade na expressão sexual diminuiria a flutuação da produção que ocorre durante o ano, permitindo ao produtor maior chance de êxito na exploração da cultura. Em razão disso, considerável interesse tem sido direcionado para a busca pelo conhecimento da época que mais influencia a ocorrência dessas deformações e quais condições climáticas são favoráveis à manifestação do potencial genético reprodutivo da espécie. Para tanto, torna-se necessário identificar a natureza da ação dos genes envolvidos no controle desses caracteres, bem como quantificar a variabilidade genética da população a ser melhorada, procedimentos estes que segundo Cruz e Carneiro (2003) podem ser realizados a partir da estimação dos parâmetros e correlações genéticas, permitindo avaliar a eficiência de diferentes estratégias de melhoramento para obtenção de ganhos genéticos e manutenção de uma base genética adequada.

Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo obter informações sobre a influência da sazonalidade na expressão sexual em gerações segregantes e em genótipos elite de mamoeiro, realizando um levantamento das deformações (carpelóides e pentândricas) e das reversões ocorridas em flores hermafroditas durante o período de avaliação, bem como estimar alguns parâmetros e o ganho genético direto com a seleção para algumas características relevantes no melhoramento do mamoeiro.

### 3.1.4 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1.4.1. Material genético

Neste trabalho foram avaliadas plantas hermafroditas de tratamentos segregantes 16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, RC<sub>2</sub> e RC<sub>1</sub> X SS72/12, derivados do cruzamento inicial entre o genótipo dióico 'Cariflora' (genitor recorrente) e a variedade elite 'Sunrise Solo 783' (genitor doador do alelo  $M_2$ ). Além dos tratamentos segregantes, foram avaliadas 15 plantas do 'Golden' e 15 plantas do 'Sunrise Solo 783' (ambos variedades elites do grupo 'Solo') para fins comparativos.

Os três primeiros genótipos citados foram obtidos por meio da autofecundação das plantas 16RC<sub>1</sub>, 52RC<sub>1</sub> e 115RC<sub>1</sub>, provenientes do primeiro retrocruzamento com o genótipo 'Cariflora' (RC<sub>1</sub>) e a geração segregante RC<sub>2</sub> foi obtida por meio do segundo retrocruzamento com o genótipo 'Cariflora' (RC<sub>2</sub>). Por outro lado, 'SS 72/12' X RC<sub>1</sub> foi obtido por meio do cruzamento entre uma planta segregante RC<sub>1</sub> (planta 4, doadora do pólen) e uma planta da variedade elite 'Sunrise Solo 72/12'.

#### 3.1.4.2. Condições Experimentais

O experimento foi instalado na área comercial da empresa Caliman Agrícola S/A (Fazenda Romana), localizada no município de Linhares, no Estado do Espírito Santo. Esta região possui um clima do tipo Awi de Koppen (tropical

úmido), com chuvas no verão e seco no inverno. O relevo é plano, formando os chamados platôs litorâneos, com uma altitude que varia de 28 a 65 m (Rolim et al., 1999).

As avaliações foram realizadas no experimento instalado em 25 de janeiro de 2005, onde foi utilizado o delineamento de blocos ao acaso com sete tratamentos (16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, RC<sub>2</sub> e RC<sub>1</sub> X 72/12, SS783 e Golden) e duas repetições. As mudas foram transplantadas para duas fileiras em espaçamento definitivo de 1,5 m x 3,6 m. As parcelas foram constituídas por 36, 33, 17, 24, 63, 15 e 15 plantas dos tratamentos “16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, SS 72/12 x RC<sub>1</sub>, RC<sub>2</sub>, SS 783 e Golden”, respectivamente, sendo esta variação do número de plantas por parcela em função da disponibilidade de mudas. O tratamento RC<sub>2</sub> foi composto por 63 plantas devido ao alto grau de heterozigose esperado entre essas plantas, tendo em vista a necessidade de realizar seleção para a obtenção do RC<sub>3</sub>.

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

#### **3.1.4.3. Características avaliadas**

A avaliação consistiu na contagem do número de flores hermafroditas totais (NFHT), número de flores hermafroditas deformadas (NFHD), número de flores hermafroditas estéreis (NFHE) e número de flores hermafroditas normais (NFHN), representadas pelas alongadas. O NFHD compreende o somatório das flores carpelóides e pentândricas, pela dificuldade em distinguir os tipos pelo fenótipo externo. O número de flores hermafroditas totais (NFHT) é resultado do somatório do NFHD, NFHE e NFHN. Além das características florais, foram avaliadas características referentes ao fruto, sendo elas: número de frutos totais (NFrT), número de frutos carpelóides (NFrC), número de frutos pentândricos (NFrP) e número de frutos comerciais (NFrCo).

Em média 250 plantas hermafroditas foram avaliadas no final de cada estação quanto às características acima citadas. As avaliações foram realizadas no inverno e primavera de 2005, no verão 2005/2006 e no outono de 2006.

### 3.1.4.4. Dados climatológicos

Nos quadros 1 e 2 constam os dados climatológicos do município de Linhares-ES, tais como temperatura, precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar dos meses correspondentes às épocas em que foram realizadas as avaliações da floração e frutificação. No quadro 3 estão caracterizados os dados referentes ao histórico do clima da região referentes ao período de 1964 à 2005, discriminando cada mês que compreende às épocas avaliadas.

**Quadro 1.** Descrição das variações na temperatura do ar nas estações do inverno e primavera 2005, verão 2005/06 e outono 2006 no município de Linhares-ES <sup>1</sup>

Mês/ano	Temperatura do ar (°C)				
	Média das máximas	Média das mínimas	Média compensada	Máxima absoluta	Mínima absoluta
Julho/2005	27.9	16.9	21.5	32.2	13.0
Agosto/2005	27.1	17.1	21.3	31.8	12.4
Setembro/2005	28.1	18.5	22.5	34.4	13.4
Média (inverno)	27.7	17.5	21.8	32.8	12.9
Outubro/2005	30,8	20,5	24,9	35,0	15,4
Novembro/2005	28,4	20,9	23,8	33,8	17,3
Dezembro/2005	30,3	21,9	25,1	33,8	16,2
Média (primavera)	29,83	21,1	24,6	34,2	16,3
Janeiro/2006	31,9	22,1	26,2	34,8	19,8
Fevereiro/2006	34,5	23,1	27,0	39,1	20,0
Março/2006	32,0	22,9	26,3	38,0	20,6
Média (verão)	32,8	22,7	26,5	37,3	20,13
Abril/2006	31,0	21,3	25,1	37,7	18,2
Mai/2006	29,1	17,6	22,2	33,6	14,8
Junho/2006	27,0	16,0	20,5	32,0	12,7
Média (outono)	29,03	18,3	22,6	34,43	15,23

<sup>1</sup> Fonte: Instituto capixaba de pesquisa, assistência técnica e extensão rural (INCAPER)

**Quadro 2.** Descrição das variações na precipitação pluviométrica nas estações do inverno e primavera 2005, verão 2005/06 e outono 2006, no município de Linhares-ES <sup>1</sup>

Mês/ano	Precipitação (mm) e Umidade relativa do ar (%)			
	Precipitação esperada	Precipitação observada	Nº de dias chuvosos	Umidade relativa do ar
Julho/2005	62	76,7	11	82
Agosto/2005	43	36,9	14	79
Setembro/2005	58	31,8	19	79
Média (Inverno)	54,3	48,5	14,7	80
Outubro/2005	112	20,4	7	80
Novembro/2005	175	354,7	22	88
Dezembro/2005	177	111,5	12	84
Média (primavera)	154,7	162,2	13,7	83,3
Janeiro/2006	142	56,6	11	83
Fevereiro/2006	101	98,2	11	77
Março/2006	100	295,7	19	86
Média (verão)	114,3	150,2	13,7	82
Abril/2006	85	47,2	9	85
Mai/2006	67	1,6	2	82
Junho/2006	51	36,9	11	87
Média (outono)	67,7	28,6	7,3	84,7

<sup>1</sup>Fonte: Instituto capixaba de pesquisa, assistência técnica e extensão rural (INCAPER)

**Quadro 3.** Histórico das temperaturas e precipitação média nos meses de inverno, primavera verão e outono no município de Linhares-ES, correspondente ao período de 1976 a 2005 <sup>1</sup>

Mês/ano	Temperatura do ar (°C)	Precipitação (mm)
Julho	21,0	52,7
Agosto	21,4	45,8
Setembro	22,2	68,4
Média (Inverno)	21,5	55,6
Outubro	24,3	110,3
Novembro	26,3	220,2
Dezembro	26,5	205,8
Média (primavera)	25,7	178,8
Janeiro	25,4	206,5
Fevereiro	26,0	170,0
Março	26,2	86,2
Média (verão)	25,9	154,2
Abril	25,5	80,0
Mai	23,7	65,2
Junho	22,5	50,5
Média (outono)	23,9	65,2

<sup>1</sup>Fonte: Instituto capixaba de pesquisa, assistência técnica e extensão rural (INCAPER)

### **3.1.4.5. Análise estatística**

A análise estatística das características da floração e da frutificação foi realizada por meio de recursos computacionais, utilizando o programa GENES (Cruz, 2001) e do Microsoft Excel (2000).

#### **3.1.4.5.1. Análise de variância**

##### **3.1.4.5.1.1. Análise de variância individual**

A análise de variância foi realizada para testar a hipótese:

$$H_0 : T_1 = T_2 = T_3 \dots T_k \text{ e } H_1: \text{não } H_0$$

Realizaram-se as análises de variância em cada época, com base na média das parcelas para cada uma das características avaliadas (descritas no item 3.2.3), obedecendo o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + E_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Onde:

$Y_{ijk}$ : valor observado, referente a k-ésima planta do i-ésimo genótipo na j-ésima repetição;

$\mu$ : constante geral;

$T_i$ : efeito fixo do i-ésimo genótipo;

$B_j$ : efeito da j-ésima repetição;

$E_{ij}$ : erro experimental associado à parcela NID (0,  $\sigma^2$ )

$\varepsilon_{ijk}$ : erro experimental dentro da parcela.

**Quadro 4.** Esquema da análise de variância das características morfoagronômicas que foram avaliadas nas famílias segregantes, com as esperanças matemáticas dos quadrados médios

FV	GL	QM	EQM	F
Bloco	r-1	QMB		
Genótipo	g-1	QMG	$\sigma^2d + p\sigma^2 + pr\Phi g$	QMG/QMR
Erro	(r-1)(f-1)	QMR	$\sigma^2d + p\sigma^2$	
Plt/família	gr(p-1)	QMP	$\sigma^2d$	

Em que:

r : número de repetições (blocos);

f : número de tratamentos (ou famílias);

p : número de plantas por tratamento;

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

$\Phi g$  : componente de variabilidade genotípica;

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

### 3.1.4.5.1.2. Análise de variância conjunta

A análise de variância foi realizada para testar a hipótese:

$$H_0 : T_1 = T_2 = T_3 \dots T_k \text{ e } H_1: \text{não } H_0$$

Realizaram-se as análises de variância conjunta, com base na média dos períodos para cada uma das características avaliadas (descritas no item 3.2.3), obedecendo o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + E_l + B_j + TE_{il} + \epsilon_{ijkl}$$

Onde:

$Y_{ijkl}$ : valor observado, referente a k-ésima planta do i-ésimo genótipo na j-ésima repetição na l-ésima época;

$\mu$ : constante geral;

$T_i$ : efeito fixo do i-ésimo genótipo;

$E_l$ : efeito fixo da l-ésima época;

$B_j$ : efeito da j-ésima repetição;

$\varepsilon_{ijk}$ : erro experimental dentro da parcela.

**Quadro 5.** Esquema da análise de variância das características morfoagronômicas que foram avaliadas nas famílias segregantes, com as esperanças matemáticas dos quadrados médios

FV	GL	QM	EQM	F
Bloco	r-1	QMB		
Época (E)	e-1	QME	$\sigma^2d + p\sigma^2 + prg\Phi e$	QME/QMR
Genótipo (G)	g-1	QMG	$\sigma^2d + p\sigma^2 + pre\Phi g$	QMG/QMR
E x G	(e-1)(g-1)	QMEG	$\sigma^2d + p\sigma^2 + pr\Phi eg$	QMEG/QMR
Erro	(r-1)(g-1)	QMR	$\sigma^2d + p\sigma^2$	
Plt/família	gr(p-1)	QMP	$\sigma^2d$	

Em que:

r : número de repetições (blocos);

g : número de tratamentos (ou famílias);

p : número de plantas por tratamento;

e: número de épocas;

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

$\Phi g$  : componente de variabilidade genotípica;

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

### 3.1.4.5.2. Parâmetros genéticos

A partir das análises de variância de cada característica foram obtidas as estimativas de variância e demais parâmetros genéticos. Os parâmetros estimados foram:

a) variância fenotípica ( $\hat{\sigma}_f^2$ )

$$\hat{\sigma}_f^2 = \frac{QMG}{pr}$$

b) Variabilidade genotípica ( $\hat{\Phi}_g$ )

$$\hat{\Phi}_g = \frac{QMG - QMR}{pr}$$

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

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

d) Coeficiente de determinação genotípica ( $H^2$ )

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

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

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

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

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

g) Índice de variação ( $\hat{I}_V$ )

$$\hat{I}_V = \frac{\hat{CV}_g}{\hat{CV}_e}$$

### 3.1.4.5.3. Estimativa das correlações genotípicas

A partir dos produtos médios dos vários caracteres analisados foram obtidas as estimativas da covariância genética entre os caracteres tomados dois a dois conforme Cruz e Regazzi (1997) e finalmente, a partir desses, foram estimados os coeficientes de correlação genotípica realizados por meio do programa computacional GENES (Cruz 2001), como segue:

$$rg = \frac{Cov_g(X,Y)}{\sqrt{\sigma^2_g(X) \cdot \sigma^2_g(Y)}}$$

em que:

$Cov_g(X,Y)$  : estimador da covariância genotípica entre dois caracteres X e Y;

$\sigma^2_g(X)$ : estimador da variância genotípica do caráter X;

$\sigma^2_g(Y)$ : estimador da variância genotípica do caráter Y.

#### 3.1.4.5.4. Estimativa do ganho genético

Para determinação do ganho genético, estimado nos tratamentos segregantes, com seleção direta para produção por planta (Prod/Plt), número de frutos deformados (NFrD), obtido pelo somatório do NFrC e NFrP e número de flores hermafroditas estéreis (NFHE) foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\Delta_G = h^2 \times \Delta_S \text{ onde,}$$

$\Delta_G$  = ganho genético;  $h^2$  = herdabilidade no sentido amplo;  $\Delta_S$  = diferencial de seleção.

A herdabilidade no sentido amplo ( $h^2$ ) foi obtida da seguinte forma:

$$h^2 = (\hat{\sigma}_P^2 - \hat{\sigma}_E^2) / \hat{\sigma}_P^2$$

onde,

$\hat{\sigma}_P^2$  = Variância fenotípica de cada tratamento, em que a variação pode ser atribuída às causas genéticas e ambientais;

$\hat{\sigma}_E^2$  = Variância ambiental, determinada nos tratamento 6 ('Golden') e 7 ('SS 783'), em que a variação é toda atribuída às causas não genéticas.

### 3.1.5. RESULTADO E DISCUSSÃO

#### 3.1.5.1. Análise de variância

Os resultados da análise de variância conjunta apresentados na Tabela 1 permitem verificar que existe diferença significativa entre os genótipos pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade, para quase todos os caracteres avaliados, indicando a disponibilidade de variabilidade genética entre os tratamentos segregantes e elites para o NFrT, NFrP, NFrCo, NFHT, NFHD e NFHE. A exceção para esse resultado foi observado para o número de frutos carpelóides (NFrC) e para o número de flores hermafroditas normais (NFHN), retratando a limitada divergência genética entre os genótipos para expressão dessas duas características.

Resultados semelhantes foram encontrados também para a interação genótipo *versus* época, sugerindo a existência de comportamento diferenciado entre os genótipos quando submetidos a mudanças ambientais. Essa interação é causada por fatores fisiológicos e bioquímicos próprios de cada genótipo e sendo esses desenvolvidos em sistemas dinâmicos, onde são submetidos constantemente a mudanças durante todo seu ciclo de vida, geralmente ocorre um comportamento diferenciado em termos de resposta às variações ambientais (Cruz e Regazzi, 2004).

A análise de variância realizada por época (Tabela 2) mostrou que tanto no inverno quanto na primavera houve diferenças significativas pelo teste F ao nível de 1% de probabilidade entre os genótipos para todas as características

avaliadas, exceto para o NFHE e NFHN, que apresentaram na primavera significância apenas ao nível de 5% de probabilidade. Por outro lado, durante o verão, nem todas as características apresentaram diferenças significativas, onde estatisticamente os genótipos mostraram semelhanças para a expressão do NFrC e NFHN, enquanto que durante o outono esse comportamento foi observado para a metade das características (NFrT, NFrC, NFrCo e NFHN).

Ao analisar as estimativas da variabilidade genotípica frente às estimativas da variância fenotípica e experimental, confirma-se a existência de variabilidade genética entre os tratamentos para as características avaliadas. A existência dessa variabilidade é de fundamental importância em um programa de melhoramento genético, visto que permite ao melhorista a seleção e obtenção de genótipos superiores (Allard, 1971).

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância conjunta das características morfoagronômicas em gerações segregantes e em genótipos elites de mamoeiro, com os valores de quadrado médio genótipo (QMG), quadrado médio da interação genótipo X época (QMGE) e respectivas significâncias, médias, coeficiente de variação experimental ( $CV_e$ ), coeficiente de variação genético ( $CV_g$ ) e o coeficiente de determinação genotípica ( $H^2$ )

Características								
	NFrT	NFrC	NFrP	NFrCo	NFHT	NFHD	NFHE	NFHN
QMG	6.351,71**	26,78 <sup>ns</sup>	264,75**	8.654,84**	6.035,98**	427,23**	3.935,92**	306,11 <sup>ns</sup>
QMGE	1.350,09**	6,14 <sup>ns</sup>	73,15**	1.079,61**	832,34**	8,89**	661,25**	365,20 <sup>ns</sup>
$\hat{\sigma}_P^2$	52,93	0,22	2,21	72,12	50,30	3,56	32,80	2,55
$\hat{\sigma}_E^2$	15,52	0,17	0,44	14,10	12,04	0,11	7,56	8,00
$\hat{\Phi}_G$	51,00	0,17	2,08	69,55	48,88	3,46	29,62	0,99
Média	28,11	1,28	1,97	24,96	24,97	2,27	9,53	13,23
$CV_e(\%)$	14	32	33	15	14	14	28	21
$CV_g(\%)$	25	32	73	33	28	82	57	8
$I_v(\%)$	1,78	1,00	2,21	2,75	2,00	5,86	2,03	0,36
$H^2(\%)$	96,35	77,27	94,12	96,44	97,18	97,19	90,3	38,82

NFrT= número de frutos totais; NFrC= número de frutos carpelóides; NFrP= número de frutos pentândricos; NFrCo= número de frutos comerciais; NFHT= número de flores hermafroditas totais; NFHD= número de flores hermafroditas deformadas; NFHE= número de flores hermafroditas estéreis; NFHN= número de flores hermafroditas normais,\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; <sup>ns</sup> não significativo

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância das características morfoagronômicas em gerações segregantes e em genótipos elites de mamoeiro, nas épocas de inverno e primavera 2005, verão 2005/06 e outono 2006

Estimativas	Características							
	NFrT	NFrC	NFrP	NFrCo	NFHT	NFHD	NFHE	NFHN
<b>Inverno</b>								
QMG	11.695,9**	22,46**	110,68*	13.667,23**	2.710,67**	344,19**	986,64**	623,09**
$\hat{\sigma}_P^2$	292,37	0,56	2,77	341,68	67,77	8,60	24,67	15,58
$\hat{\sigma}_E^2$	15,82	0,05	0,69	9,44	4,95	0,23	3,58	2,24
$\hat{\Phi}_G$	284,46	0,54	2,42	336,96	65,31	8,49	22,88	14,45
Média	30,54	0,85	1,13	28,87	16,35	2,28	4,1	10,06
CVe(%)	13	25	73	10,64	14	21	46	15
CVg(%)	55	86	137,7	63,58	49,43	127,8	116,67	37,79
I <sub>v</sub> (%)	4,23	3,44	1,88	5,97	3,53	6,09	2,54	2,52
H <sup>2</sup>	97,29	96,43	87,36	98,62	96,37	98,72	92,74	92,75
<b>Primavera</b>								
QMG	3.008,86**	33,81**	664,4**	4.367,34**	7.453,2**	361,19**	5.658,7*	1.200,12*
$\hat{\sigma}_P^2$	75,22	0,84	16,61	109,18	186,18	6,03	141,47	30,01
$\hat{\sigma}_E^2$	10,87	0,05	1,55	10,13	13,58	0,43	35,43	11,68
$\hat{\Phi}_G$	69,80	0,82	15,83	104,12	179,54	8,81	123,75	24,16
Média	20,72	1,3	2,74	16,67	33,45	2,14	16,22	15,13
CVe(%)	16	17	45	19	11	31	36	22
CVg(%)	40,32	69,66	145,21	61,21	40,06	138,7	68,58	32,49
I <sub>v</sub> (%)	2,52	4,10	3,23	3,22	3,64	4,47	1,90	1,48
H <sup>2</sup>	92,79	97,62	95,3	95,37	96,35	97	87,47	80,53

Tabela 2, Cont.

Verão								
QMG	2.395,5**	3,07 <sup>ns</sup>	56,27**	3.056,53**	1.045,54**	153,57**	543,67*	84,83 <sup>ns</sup>
$\hat{\sigma}_P^2$	79,85	0,10	1,87	101,88	34,85	5,12	18,12	2,83
$\hat{\sigma}_E^2$	7,01	0,16	0,18	8,26	2,24	0,16	5,23	3,03
$\hat{\Phi}_G$	76,35	0,02	1,78	97,76	33,73	5,04	15,51	1,31
Média	36,95	2,12	2,54	32,3	25,95	2,92	7,13	15,91
CVe(%)	7	19	16	9	6	14	32	12
CVg(%)	23,65	6,67	52,53	30,61	22,38	76,88	55,23	7,19
I <sub>v</sub> (%)	3,38	0,35	3,28	3,40	3,73	5,49	1,73	0,60
H <sup>2</sup>	95	20	95,19	95,96	96,79	98,44	85,6	46,29
Outono								
QMG	359,23 <sup>ns</sup>	6,34 <sup>ns</sup>	17,46*	408,49 <sup>ns</sup>	816,62*	27,95*	617,85*	54,59 <sup>ns</sup>
$\hat{\sigma}_P^2$	35,92	0,64	1,75	40,85	81,66	2,79	61,79	5,46
$\hat{\sigma}_E^2$	36,76	1,26	0,59	49,11	33,90	0,73	16,36	18,57
$\hat{\Phi}_G$	17,54	0,005	1,45	16,29	64,71	2,43	53,61	0
Média	26,06	1,0	1,06	24,0	26,24	1,04	12,24	12,95
CVe(%)	23	112	72	30	22	82	33	33
CVg(%)	16,07	7,07	113,6	16,82	30,66	149,89	59,82	0
I <sub>v</sub> (%)	0,70	0,06	1,58	0,56	1,39	1,83	1,81	0
H <sup>2</sup>	48,83	0,78	82,85	39,88	79,24	87,1	86,76	0

NFrT= número de frutos totais; NFrC= número de frutos carpelóides; NFrP= número de frutos pentândricos; NFrCo= número de frutos comerciais; NFHT= número de flores hermafroditas totais; NFHD= número de flores hermafroditas deformadas; NFHE= número de flores hermafroditas estéreis; NFHN= número de flores hermafroditas normais,\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; <sup>ns</sup> não significativo

### 3.1.5.2. Análise da expressão sexual no mamoeiro

A análise conjunta das médias, amplitudes, desvios padrão e valores máximos e mínimos para as características avaliadas estão apresentadas nas tabelas 3 e 4. Os resultados das avaliações da floração, descritos na Tabela 3, possibilitam verificar que, assim como os dados de frutificação (NFrT e NFrCo), os números de flores hermafroditas totais (NFHT) e normais (NFHN) apresentaram ampla variação. Porém, no caso das avaliações florais houve muita variação também para o número de flores estéreis (NFHE) com números que variaram de 0 a 145. Apesar de ter ocorrido plantas com elevado grau de esterilidade feminina, este fato não se constitui em um grande problema, visto que houve plantas com expressão nula de reversão sexual, indicando a possibilidade de identificação e seleção de genótipos que apresentam baixa taxa de reversão sexual.

Os tratamentos 16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub> apresentaram os maiores números de flores totais (NFHT), no entanto, não foi observado desempenho proporcional para a produção de flores hermafroditas normais (NFHN), exceto para o tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> que apresentou maior média para essa característica. Apesar de terem produzido o maior número de flores, as estéreis (NFHE) foram as que mais contribuíram para este total. O tratamento 16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> apresentou plantas com o maior número absoluto de flores estéreis, entretanto, ao analisar as médias, o 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> se destacou entre os demais, com uma média quase oito vezes maior do que o SS 783, tratamento onde foi registrada menor ocorrência de reversão (média=3,72). Isso indica que o tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> é mais suscetível aos fatores que promovem a reversão sexual em flores, porém sua grande variabilidade para expressão de flores estéreis pode ser uma ferramenta para seleção de tipos menos afetados por estes fatores. Dessa forma, não deixa de ser um material promissor, visto que possui uma expressão desejável das demais características avaliadas neste trabalho.

O RC<sub>2</sub> foi o que apresentou menor média de flores normais entre os tratamentos segregantes, sendo esta maior do que os dois genótipos elites avaliados neste trabalho (Golden e SS 783). Todavia, considerando o DMS (5%) de 2,97 (Tabela 5), verifica-se que essas médias não diferem estatisticamente

**Tabela 3.** Valores mínimos, máximos, médios, de amplitude e desvio padrão das características da floração em plantas hermafroditas das gerações segregantes e genótipos elites, nas épocas de inverno e primavera 2005, verão 2005/06 e outono 2006

Tratamento	Características florais									
	Mínimo	Máximo	Média	Amplitude	Desvio padrão	Mínimo	Máximo	Média	Amplitude	Desvio padrão
	Número de flores hermafroditas totais					Número de flores hermafroditas deformadas				
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	2	160	32,33	158	24,28	0	8	0,45	8	1,38
52 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	5	71	26,72	66	13,89	0	21	2,97	21	4,37
115 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	16	150	47,24	134	30,55	0	4	0,27	4	0,84
72/12 x RC <sub>1</sub>	0	55	18,56	55	11,31	0	8	0,40	8	1,30
RC <sub>2</sub>	0	110	25,38	110	19,12	0	43	5,89	43	7,37
Golden	3	33	14,93	30	7,70	0	3	0,29	3	0,71
SS 783	3	33	13,63	30	7,80	0	7	0,37	7	1,18
	Número de flores hermafroditas estéreis					Número de flores hermafroditas normais				
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0	145	16,35	145	21,64	0	51	15,53	51	10,20
52 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0	48	7,69	48	8,36	0	46	16,05	46	10,88
115 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	2	138	29,36	136	31,08	0	30	17,61	30	9,85
72/12 x RC <sub>1</sub>	0	48	5,56	48	7,57	0	25	12,75	25	8,10
RC <sub>2</sub>	0	90	7,86	90	12,79	0	77	11,79	77	11,40
Golden	0	25	4,51	25	5,05	0	30	10,13	30	6,57
SS 783	0	12	3,72	12	3,27	0	27	9,54	27	5,63

entre si. Apesar de ter obtido a menor média, no tratamento RC<sub>2</sub> ocorreu plantas com até 77 flores hermafroditas normais, maior número registrado entre todos os tratamentos avaliados. Esse baixo valor médio pode ser explicado pela ocorrência de uma grande variabilidade, indicada pela alta amplitude e desvio padrão para essa característica, tendo provavelmente ocorrido muitas plantas com poucas flores perfeitas e plantas com grande número deste tipo. Por outro lado, o RC<sub>2</sub> se destacou na expressão de deformações em suas flores, fato que pode ter contribuído para um decréscimo no número de flores hermafroditas normais.

Os dois genótipos elites avaliados (SS783 e Golden) apresentaram desempenhos muito semelhantes para a maioria das características, resultado esperado já que esses genótipos são geneticamente próximos, além de serem materiais genéticos homogêneos e amplamente cultivados em regiões produtoras do país. A maior diferença entre eles foi observada para a manifestação de flores deformadas, onde os números de média, amplitude e desvio padrão no genótipo SS783 foram em média 35% maior em relação ao Golden.

Os dados referentes a frutificação (Tabela 4) nos permite observar uma considerável variabilidade entre os tratamentos avaliados. O NFrT apresentou maior variabilidade entre os demais caracteres, com números que variaram de 0 a 97, e entre os sete tratamentos avaliados, o 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> foi o que manifestou maior variação entre as plantas, indicado pela amplitude de 90 unidades. As médias dos tratamentos para esta característica variaram de 15,86 (115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>) a 41,13 (SS 783). Porém, esses dados não refletem verdadeiramente a produção, uma vez que existem tratamentos que são caracterizados por produzirem frutos grandes e por isso o número desses por planta será menor. Por outro lado, existem tratamentos nos quais as plantas produzem frutos menores e, neste caso, podem apresentar um número maior desses por planta.

Para o número de frutos carpelóides (NFrC) as médias variaram de 0,25 a 2,04, sendo o menor número e a menor variação desse tipo de deformação manifestado pelo tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, com valores de amplitude (5) e desvio padrão (0,87) menores até mesmo que o genótipo elite Golden. Por outro lado, o tratamento RC<sub>2</sub> mostrou maior variabilidade para esta forma, visto pelo maior valor médio, amplitude de 19 unidades e desvio padrão de 2,59, ambos os valores

**Tabela 4.** Valores mínimos, máximos, médios, de amplitude e desvio padrão das características do fruto em plantas hermafroditas das gerações segregantes e genótipos elites, nas épocas de inverno e primavera 2005, verão 2005/06 e outono 2006

Tratamento	Características da frutificação									
	Mínimo	Máximo	Média	Amplitude	Desvio padrão	Mínimo	Máximo	Média	Amplitude	Desvio padrão
	Número de frutos totais					Número de frutos carpelóides				
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	2	53	18,59	51	11,51	0	9	1,13	9	1,69
52 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	7	97	34,41	90	15,64	0	9	1,56	9	1,86
115 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0	68	15,86	68	15,83	0	5	0,25	5	0,87
72/12 x RC <sub>1</sub>	0	88	40,10	88	20,60	0	6	0,69	6	1,34
RC <sub>2</sub>	0	73	19,71	73	11,81	0	19	2,04	19	2,59
Golden	7	76	38,00	69	16,80	0	6	0,61	6	1,21
SS 783	15	86	41,13	71	15,11	0	5	0,99	5	1,43
	Número de frutos pentândricos					Número de frutos comerciais				
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0	18	0,79	18	2,05	0	53	16,67	53	11,06
52 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0	30	2,15	30	4,17	2	97	30,70	95	16,98
115 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0	0	0,00	0	0,00	1	68	15,89	67	15,92
72/12 x RC <sub>1</sub>	0	8	0,45	8	1,36	4	75	38,96	71	20,39
RC <sub>2</sub>	0	37	5,13	37	5,31	0	70	12,78	70	12,30
Golden	0	9	0,40	9	1,26	7	67	36,99	60	16,15
SS 783	0	1	0,01	1	0,11	14	86	40,13	72	15,22

foram os maiores apresentados entre os tratamentos. Essa maior ocorrência e variação é perfeitamente esperada, uma vez que este tratamento é derivado do segundo retrocruzamento (RC<sub>2</sub>) entre 'SS 783' e 'Cariflora' (genitor recorrente), onde espera-se encontrar em média 87,5% do genoma do genitor recorrente. Sendo o Cariflora um genótipo dióico e, portanto, altamente segregante, a população RC<sub>2</sub> apresentará maior grau de variação em seus locos, com uma significativa contribuição desse genitor para a grande heterogeneidade entre suas plantas.

A ocorrência dos frutos pentândricos (NFrP) foi mais variável do que para os frutos carpelóides, com números e médias que variaram de 0 a 37 e de 0 a 5,13, respectivamente. Novamente, o tratamento RC<sub>2</sub> foi o que apresentou maior média, amplitude e desvio padrão, seguido pelo tratamento 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, assim como para a expressão da carpeloidia. Esse comportamento semelhante entre o RC<sub>2</sub> e o 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> pode ser devido à proximidade genética de ambos ao genitor Cariflora, contudo, para este último tratamento a proporção genômica do Cariflora é 12,5% menor, isto é, o 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> possui em média 75% do genoma recorrente, ao passo que o RC<sub>2</sub> possui 87,5%, fato que pode explicar a superioridade deste último em relação a expressão das deformações de fruto. O tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> apresentou uma expressão nula (média=0,0) para essa característica, seguido do SS 783 (média = 0,01), Golden (média = 0,40) e 72/12 x RC<sub>1</sub> (média = 0,45), entretanto, ao analisar a amplitude, o tratamento segregante citado acima (72/12 x RC<sub>1</sub>) apresentou variação menor do que o genótipo elite Golden. Pode-se afirmar também, ao analisar os números já citados, que o tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> é promissor para a seleção de genótipos com menores manifestações de frutos deformados.

Considerando a análise geral, o número de frutos comerciais (NFrCo) variou de 0 a 97, com maior amplitude e desvio padrão nos tratamentos 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e 72/12 x RC<sub>1</sub>, respectivamente, e menor observado no tratamento 16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>. No entanto, ao analisar as médias, o maior e o menor valor são apresentados pelo SS 783 e RC<sub>2</sub>, respectivamente. Isso pode ser explicado pela variação existente dentro dos tratamentos, podendo ocorrer plantas com número baixo de frutos, enquanto em outras ocorrem números maiores. Essa variação é decorrente da estrutura genética e do quanto o ambiente interfere na expressão de características que podem afetar a produção da planta. Apesar dessas variações

dentro dos tratamentos, os valores próximos de amplitude (exceto nos tratamentos 16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>,) revelam uma considerável uniformidade nos mesmos, assim como os valores do desvio padrão (com destaque para 72/12 x RC<sub>1</sub>). Da mesma forma que o NFrT, houve muita variabilidade dentro dos tratamentos para NFrCo, indicando maior possibilidade de seleção de genótipos superiores para avançar gerações.

As descrições do comportamento dos genótipos segregantes e elites diante das características avaliadas descritas acima foram baseadas na média das avaliações realizadas em quatro épocas distintas durante um ano. Conforme o objetivo deste trabalho, estão descritos na Tabela 5 os números médios, respectivos desvios padrão e diferença mínima significativa para as características da floração, discriminados por época. No inverno, assim como no verão, o maior valor médio foi apresentado pelo número de flores hermafroditas normais (NFHN), seguido pelo número de flores estéreis (NFHE) e pelo número de flores hermafroditas deformadas (pentândricas + carpelóides), indicando que nessas duas épocas as flores hermafroditas normais, que originam os frutos com valor comercial, apresentaram a maior contribuição para o número de flores totais. Contudo, na primavera e no outono houve uma inversão na contribuição das características para o número de flores totais, sendo que a maior média foi apresentada pelo NFHE, seguido do NFHN e NFHD.

A produção total de flores hermafroditas (NFHT) foi maior, em média, na primavera, seguida do outono, verão e inverno. Durante o inverno e a primavera a temperatura média no município de Linhares-ES foi de 21,8°C e 24,6°C, respectivamente. Esse resultado contradiz alguns relatos encontrados na literatura. Segundo Manica (1982), durante as temperaturas mais baixas, especialmente a queda de temperatura no fim do outono, durante o inverno e princípio da primavera, ocorre uma paralisação do desenvolvimento vegetativo do mamoeiro, não acontecendo o florescimento, retardando a maturação dos frutos e provocando uma menor oferta desses no mercado durante o verão. Nesse contexto, o esperado é que os maiores valores do NFHT fossem encontrados durante o verão, os menores durante o inverno e um número intermediário na primavera e outono, no entanto, a maior média para esta característica foi registrada na primavera, e não no verão.

**Tabela 5.** Valores médios, desvios padrão e respectivas diferenças mínimas significativas (DMS) para as características florais em gerações segregantes e em genótipos elites de mamoeiro avaliados em quatro épocas distintas

Trat.	Épocas				
	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Geral
<b>NFHT</b>					
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	24,58±17,19	44,31±28,72	22,33±13,17	41,10±15,15	32,33±24,28
52 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	16,61±8,04	36,39±13,57	27,70±8,16	23,60±8,59	26,72±13,89
115 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	33,41±13,22	68,27±42,27	48,00±16,46	47,80±16,80	47,24±30,55
72/12xRC <sub>1</sub>	9,84±5,65	26,83±11,81	19,57±6,46	19,09±7,84	18,56±11,31
RC <sub>2</sub>	15,39±11,93	33,37±22,82	31,27±15,64	29,45±15,25	25,38±19,12
Golden	8,30±3,28	17,90±7,31	20,40±5,80	15,90±5,00	14,93±7,70
SS 783	7,83±2,72	13,76±7,67	22,15±4,74	19,60±9,60	13,63±7,80
DMS <sub>(T=5%)</sub>	5,45	9,03	3,67	14,26	3,64
<b>NFHD</b>					
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,35±1,44	0,44±1,17	0,73±1,68	0,00±0,00	0,45±1,38
52 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	3,67±4,93	2,30±3,84	2,93±4,03	2,10±4,01	2,97±4,37
115 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,35±1,06	0,27±0,65	0,00±0,00	0,00±0,00	0,27±0,84
72/12xRC <sub>1</sub>	0,00±0,00	0,02±0,15	1,60±2,25	0,27±0,90	0,40±1,30
RC <sub>2</sub>	5,47±6,58	6,26±7,98	6,03±7,82	4,18±5,49	5,89±7,37
Golden	0,07±0,25	0,03±0,18	1,00±1,12	0,00±0,00	0,29±0,71
SS 783	0,00±0,00	0,00±0,00	1,45±2,01	0,00±0,00	0,37±1,18
DMS <sub>(T=5%)</sub>	1,17	1,61	0,98	2,09	0,35
<b>NFHE</b>					
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	9,61±13,83	26,79±27,37	7,80±6,80	24,30±20,74	16,35±21,64
52 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	2,42±2,96	11,77±9,60	10,30±7,35	10,70±10,94	7,69±8,36
115 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	14,94±11,75	54,27±41,89	23,60±12,46	30,40±17,10	29,36±31,08
72/12xRC <sub>1</sub>	1,48±3,20	12,02±8,55	1,90±1,81	6,55±5,20	5,56±7,57
RC <sub>2</sub>	2,55±4,53	13,92±18,17	8,33±8,75	13,73±15,70	7,86±12,79
Golden	0,83±0,99	9,40±5,00	2,70±1,98	2,60±2,01	4,51±5,05
SS 783	0,93±1,46	5,65±2,88	5,10±2,88	9,30±8,40	3,72±3,27
DMS <sub>(T=5%)</sub>	4,63	14,58	5,6	9,91	2,89

Tabela 5. Cont.

	NFHN				
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	14,63±8,41	17,18±12,03	13,80±9,13	16,80±13,46	15,53±10,20
52 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	10,51±7,79	22,32±11,81	14,47±6,88	10,80±5,88	16,05±10,88
115 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	18,12±8,89	13,73±10,70	24,40±8,62	17,40±15,50	17,61±9,85
72/12xRC <sub>1</sub>	8,63±5,66	14,72±9,39	16,07±6,55	12,27±6,90	12,75±8,10
RC <sub>2</sub>	7,53±10,16	13,08±11,09	17,13±11,26	11,55±8,71	11,79±11,40
Golden	7,40±3,40	8,47±6,53	16,70±5,93	13,30±4,45	10,13±6,57
SS 783	6,90±2,83	8,10±5,99	15,60±3,50	10,30±4,99	9,54±5,63
DMS <sub>(T=5%)</sub>	3,67	8,37	4,26	10,56	2,97

NFHT= número de flores hermafroditas totais; NFHD= número de flores hermafroditas deformadas; NFHE= número de flores hermafroditas estéreis; NFHN= número de flores hermafroditas normais; DMS = Diferença mínima significativa ao nível de 5% de probabilidade

A maior média para o NFHT entre todos os tratamentos foi registrada no 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> nas quatro épocas avaliadas, destacando-se como material genético promissor para o avanço de gerações, visto que apresentou média até quatro vezes maior do que os genótipos elite durante a época de maior expressão dessa característica (primavera). Entretanto, para a seleção de genótipos superiores dentro dos tratamentos segregantes é necessário considerar o desempenho dos mesmos para as demais características avaliadas. Por outro lado, as menores médias foram apresentadas pelo Golden e SS783, indicando uma moderada e até elevada superioridade dos genótipos segregantes em relação aos genótipos elites.

Pelos valores do DMS as médias para NFHD foram pouco divergentes entre os tratamentos nas diferentes épocas, tendo ocorrido variabilidade em maior grau nos meses do outono, época onde houve maior média para esta característica. Os tratamentos RC<sub>2</sub> e 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> apresentaram os maiores valores médios, com uma considerável superioridade do primeiro em relação ao segundo em todas as épocas, sendo estes valores significativamente maiores do que as médias dos demais tratamentos. Apesar do verão ter sido a época de maior ocorrência das deformações florais, os dois tratamentos acima citados tiveram suas maiores médias no inverno (52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>) e primavera (RC<sub>2</sub>). Entre os

tratamentos segregantes, a menor ocorrência dessa característica foi observada no tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, seguido do 72/12 x RC<sub>1</sub> e do 16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>. Ao contrário dos dois últimos tratamentos, no 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> a expressão das deformações foi mais pontual, ou seja, foi distribuída durante o inverno e primavera, enquanto que nas demais épocas a sua expressão foi nula.

Awada e Ikeda (1957) relatam que condições de alta umidade no solo, baixas temperaturas e excesso de nitrogênio no solo favorecem o desenvolvimento de flores que produzirão frutos carpelóides e ressaltam que a temperatura é, provavelmente, o fator mais importante. No entanto, o que se verifica neste trabalho é que a maior ocorrência das deformações florais foi observada durante os meses quentes do verão. Contudo, Dantas e Morales (1996) acrescentam que mudanças de temperatura consideráveis durante os meses mais quentes, além dos fatores já mencionados, podem ocasionar a expressão desse tipo de deformação. Essa pode ser uma explicação plausível para o resultado obtido no presente trabalho, uma vez que no período do verão foi registrada uma amplitude de até 10,1°C, com precipitação e umidade relativa do ar maior do que os registrados durante o inverno. Além disso, como já mencionado, outros fatores externos podem causar injúrias na planta, levando-a a expressão desse tipo de anomalia.

A maior ocorrência de reversão sexual nas flores hermafroditas foi na primavera, seguido pelo outono. No entanto, maior expressão da esterilidade feminina durante o verão são resultados que têm sido observados em outros trabalhos com esta cultura (Awada, 1958; Giacometti e Mundim, 1953 e Nakasone *et al.*, 1972, citados por Almeida *et al.*, 2003; Siva *et al.*, 2006a; Damasceno Junior, 2004). Sendo assim, a ocorrência de maior reversão sexual durante a primavera na população segregante avaliada indica que outros fatores, ainda não estudados, exercem grande influência na expressão dessa característica, uma vez que as condições climáticas do verão 2006 foram mais favoráveis para a manifestação desse distúrbio floral do que da primavera.

Almeida *et al.* (2003) enfatizam que, assim como a precipitação, a demanda evapotranspirométrica é uma variável que pode influenciar o desenvolvimento da planta e acrescentam que uma relação equilibrada entre esses dois fatores é fundamental para o desenvolvimento da cultura. No trabalho desses autores, onde foi avaliada a influência de diferentes lâminas de irrigação

na expressão sexual do mamoeiro, foi constatado que ocorre influência tanto de temperaturas elevadas quanto de baixas, ou, possivelmente da amplitude térmica na produção de flores estéreis, sendo seu efeito condicionado à disponibilidade de água no solo. Costa *et al.* (2003), avaliando a expressão da reversão sexual nos cultivares Sunrise Solo e Golden, concluíram que a utilização do sistema de irrigação do tipo aspersão contribui para a redução da esterilidade feminina e ressaltam que esse sistema de irrigação tende a elevar a umidade relativa do ar em torno das plantas, sendo esta uma provável explicação para redução da expressão dessa característica.

O tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> apresentou uma expressiva sensibilidade à reversão sexual, seguido pelo 16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>. Segundo Manica (1982), um número muito grande de flores hermafroditas pode provocar uma produção excessiva de frutos, gerando deformação e perda de qualidade dos mesmos. Dessa forma, certo nível de reversão sexual nas plantas, desde que não seja exagerado, pode não ser um grande problema, uma vez que os espaços deixados pelas flores cujos ovários foram abortados (flores estéreis) possibilitam melhor desenvolvimento do fruto e aumento da sua qualidade.

Por outro lado, os tratamentos 72/12 x RC<sub>1</sub> e 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> foram os menos afetados pelos fatores que induzem a reversão do sexo entre os tratamentos segregantes. Assim como para as características discutidas anteriormente, o tratamento 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> demonstrou uma tendência à uniformidade na expressão do NFHE, ocorrendo uma significativa redução desta durante o inverno. Durante a época de maior expressão (primavera), o NFHE chegou a representar 79,5% do NFHT no 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, ao passo que a maior contribuição desse tipo para o NFHT no Golden e SS 783 foi em média 45%. A flutuação que esses materiais genéticos apresentaram durante as quatro épocas de avaliação indica que são fortemente influenciados por alterações climáticas e demais estresses abióticos que induz a expressão da esterilidade feminina.

Silva *et al.* (2006a) supõem que a reversão sexual (esterilidade feminina) indica um mecanismo de sobrevivência, onde a planta passa a economizar energias durante os meses mais quentes e secos, sem comprometer a dispersão dos seus alelos, priorizando o lado reprodutivo em detrimento ao produtivo, evitando assim, um desgaste fisiológico que poderia levá-la até à morte.

Partindo desse princípio, pode-se inferir que no período mais crítico as plantas deixam de desenvolver novos frutos e para não comprometer a geração de progênes, passam a desenvolver mais flores, porém reverte o sexo para garantir que seus alelos permaneçam na população através da dispersão do grão de pólen. Essa pode ser uma explicação plausível para os resultados encontrados nesse trabalho, uma vez que a época que apresentou a maior produção de flores totais foi também a que manifestou maior índice de reversão sexual das flores, tendo este último tipo contribuído para a maior parte das flores desenvolvidas e diferenciadas durante a primavera.

O número médio de flores hermafroditas normais (NFHN) foi pouco divergente estatisticamente entre os tratamentos, chegando a ser nula esta variação no outono, indicando uma uniformidade na expressão da característica entre os tratamentos nessa época do ano. Apesar da média geral do outono ter sido bem próximo a da primavera, esta última apresentou uma variação considerável entre os materiais genéticos. A maior ocorrência de NFHN foi verificada durante o verão, e a menor durante o inverno, com valor intermediário apresentados na primavera e outono. Apesar de o inverno ter apresentado a menor média de flores hermafroditas normais, de maneira geral, foi a época onde houve maior contribuição desse tipo de flor para o número de flores totais. O tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> apresentou as maiores médias, exceto na primavera, onde o 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> manifestou a maior expressão de flores normais. Este último tratamento também apresentou maior uniformidade, comportamento observado para todas as características avaliadas, tendo sido mais divergente durante a primavera.

Analisando a expressão do NFHT e do NFHN verifica-se a ocorrência de uma correlação positiva entre os dois caracteres, visto que os tratamentos que produziram o maior número frutos foram também os que apresentaram maior número de flores hermafroditas normais. Exemplo desse comportamento pode ser verificado no tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, que apresentou o maior número frutos em três das quatro épocas avaliadas, mesmo tendo ocorrido a reversão do sexo para boa parte das flores desenvolvidas. Da mesma forma, na primavera o maior número de flores normais foi apresentado pelo tratamento 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, que por sua vez, também apresentou o maior NFHT entre todas as épocas de avaliação. Assim, a

redução do NFHN no 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> durante a primavera pode estar ligada a maior reversão do sexo nas plantas deste tratamento nessa mesma época.

Silva *et al.* (2006a), ao avaliar a expressão sexual do mamoeiro durante o inverno e verão de 2003 no município de Linhares-ES, verificaram que a produção total de flores foi maior no inverno, assim como a expressão das deformações florais, tanto para o RC<sub>1</sub> quanto para o Golden. Ao contrário do NFHT e NFHD, o número de flores estéreis foi significativamente maior durante o verão para os dois materiais, demonstrando uma grande variabilidade entre plantas do RC<sub>1</sub>. Já em relação ao número de flores hermafroditas normais, houve uma drástica redução na ocorrência no verão em relação ao inverno. Mesmo considerando apenas as avaliações realizadas durante o inverno e verão, nota-se resultados divergentes para o NFHT, NFHD e NFHN entre o presente trabalho e o citado acima, havendo resultados semelhantes apenas em relação à expressão de flores estéreis, indicando uma grande complexidade na expressão do sexo nessa espécie. De acordo com os resultados, pode-se sugerir que essas características são bastante sensíveis a estímulos externos, podendo estes sinais ambientais induzir a ativação e interação de um grupo de genes de uma forma complexa, oferecendo certa dificuldade para análise da herança e expressão desses caracteres.

A partir da análise da floração torna-se evidente a complexidade envolvida na expressão das características florais, assim como tem sido demonstrado em estudos com plantas modelos, onde o processo de florescimento é regulado por uma complexa rede de vias de sinalização, moduladas pelas condições ambientais (Samach e Coupland, 2000). Os resultados divergentes encontrados neste trabalho, relativos à época de maior e menor expressão das características, sugerem a participação de inúmeros fatores ambientais interagindo com os mecanismos genéticos, tornando a elucidação do comportamento floral uma tarefa bastante complexa. Sendo assim, torna-se necessário uma avaliação mais minuciosa da expressão sexual do mamoeiro, considerando desde a disponibilidade de água no solo, nutrientes, entre outros, até análises à nível molecular (além dos fatores aqui avaliados), possibilitando dessa forma, a realização de uma análise mais abrangente e com resultados mais informativos.

O comportamento diferenciado no desenvolvimento floral e, conseqüentemente, na expressão do sexo, entre os genótipos segregantes e elites, durante as quatro épocas de avaliação, indica a existência de variação genética entre e dentro dos tratamentos, possibilitando a identificação de genótipos com maior potencial para baixa ou nula expressão das deformações florais e da reversão sexual. A identificação desses materiais genéticos irá contribuir para ampliação da base genética do mamoeiro, uma vez que são com esses genótipos que segue a busca por linhagens endogâmicas superiores.

Estão descritos na Tabela 6 as médias, respectivos desvios padrão e diferenças mínimas significativas de cada tratamento para as características relacionadas à frutificação, discriminadas por época. Em média, a maior produção de frutos foi registrada no verão, seguida do inverno, havendo nas demais épocas uma redução significativa (42%) no número de frutos totais. Analisando os valores das diferenças mínimas significativas (DMS), verifica-se que não houve distinção entre as médias dos tratamentos 72/12 x RC<sub>1</sub>, Golden e SS 783, nas quatro épocas avaliadas, indicando que esses materiais genéticos se comportam de forma semelhante sobre diferentes estímulos ambientais. Esse comportamento semelhante entre o 72/12 x RC<sub>1</sub> e os genótipos elites é perfeitamente esperado, visto que este resulta do cruzamento entre uma planta da população RC<sub>1</sub>, que em média possui 75% do genoma do Cariflora, e uma planta da variedade SS 72/12, que é muito próximo geneticamente do SS 783. Assim, espera-se que plantas do tratamento 72/12 x RC<sub>1</sub> possuam em média 50%, 37,5% e 12,5% do genoma do SS 72/12, Cariflora e SS 783, respectivamente, sendo então 62,5% desse genoma proveniente do grupo Solo.

Em geral, a maior ocorrência de carpeloidia (NFrC) foi registrada no verão, ao passo que a menor expressão dessa característica ocorreu no inverno, com uma diferença muito discreta entre as médias da primavera e outono. As maiores médias para esta característica foram registradas no verão para a maioria dos tratamentos avaliados, exceto para o tratamento 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, cujo pico ocorreu na primavera. Considerando que da diferenciação e desenvolvimento da flor à obtenção do fruto são necessários de 4 a 5 meses, podemos inferir que essa maior expressão da carpeloidia do fruto durante o verão é devido, principalmente, as condições climáticas da época em que as flores foram diferenciadas, ou seja, entre o inverno e início da primavera. Porém, ao analisar

**Tabela 6.** Valores médios, desvios padrão e respectivas diferenças mínimas significativas (DMS) para as características da frutificação em gerações segregantes e em genótipos elites de mamoeiro avaliados em quatro épocas distintas

Trat.	Épocas				
	Inverno	Primavera	Verão	Outono	Geral
<b>NFrT</b>					
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	21,15±10,55	11,62±7,09	29,03±11,95	20,70±8,78	18,59±11,51
52 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	35,41±13,74	32,26±16,57	36,93±17,31	28,20±14,67	34,41±15,64
115 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	14,71±17,89	11,09±8,70	31,20±10,13	11,80±3,11	15,86±15,83
72/12xRC <sub>1</sub>	51,49±16,77	22,54±16,98	49,20±10,34	32,64±9,13	40,10±20,60
RC <sub>2</sub>	17,02±10,79	16,51±8,22	28,90±13,16	22,27±9,14	19,71±11,81
Golden	46,40±11,77	21,93±9,67	49,50±12,64	25,60±5,46	38,00±16,80
SS 783	51,77±14,58	28,48±7,31	43,55±10,17	33,80±15,90	41,13±15,11
DMS <sub>(T=5%)</sub>	9,74	8,08	6,49	14,85	4,14
<b>NFrC</b>					
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,58±1,26	1,17±1,50	2,37±2,27	0,90±1,37	1,13±1,69
52 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	1,27±1,70	1,80±1,98	1,63±1,90	1,00±1,05	1,56±1,86
115 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,05±0,22	0,27±0,47	1,00±2,24	0,00±0,00	0,25±0,87
72/12xRC <sub>1</sub>	0,13±0,61	0,33±0,73	2,13±1,81	1,64±1,86	0,69±1,34
RC <sub>2</sub>	1,62±2,26	2,27±2,87	2,43±2,66	2,18±2,13	2,04±2,59
Golden	0,17±0,53	0,13±0,43	2,00±1,62	0,00±0,00	0,61±1,21
SS 783	0,33±1,06	0,86±1,03	2,15±1,73	0,60±0,97	0,99±1,43
DMS <sub>(T=5%)</sub>	0,53	0,55	0,98	2,75	0,43
<b>NFrP</b>					
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,18±0,68	0,59±1,44	2,70±3,83	1,00±2,31	0,79±2,05
52 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	1,29±3,62	2,62±4,93	3,00±3,13	3,60±4,79	2,15±4,17
115 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
72/12xRC <sub>1</sub>	0,00±0,00	0,20±0,93	1,57±2,16	0,36±0,67	0,45±1,36
RC <sub>2</sub>	3,11±5,73	8,35±8,91	4,07±5,55	1,91±2,59	5,13±5,31
Golden	0,00±0,00	0,00±0,00	1,60±2,14	0,00±0,00	0,40±1,26
SS 783	0,00±0,00	0,00±0,00	0,05±0,22	0,00±0,00	0,01±0,11
DMS <sub>(T=5%)</sub>	2,03	3,05	1,04	1,88	0,70

Tabela 6, Cont.

	NFrCo				
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	20,39±10,58	9,56±6,85	23,97±11,61	18,80±10,09	16,67±11,06
52 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	32,85±14,90	27,83±17,78	32,30±19,03	23,60±15,85	30,70±16,98
115 RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	15,10±18,03	10,82±8,90	30,20±12,07	11,80±3,11	15,89±15,92
72/12xRC <sub>1</sub>	51,36±16,70	22,02±16,86	45,50±10,85	30,64±9,88	38,96±20,39
RC <sub>2</sub>	12,79±10,44	5,89±6,59	22,40±14,79	18,18±9,65	12,78±12,30
Golden	46,23±11,76	21,80±9,70	45,90±12,16	25,60±5,46	36,99±16,15
SS 783	51,43±14,57	27,62±7,21	41,35±10,33	33,20±15,31	40,13±15,22
DMS <sub>(T=5%)</sub>	7,53	7,8	7,04	17,17	3,94

NFrT= número de frutos totais; NFrC= número de frutos carpelóides; NFrP= número de frutos pentândricos; NFrCo= número de frutos comerciais; DMS = Diferença mínima significativa ao nível de 5% de probabilidade

os resultados das avaliações florais, verifica-se que não há essa sincronia entre a expressão das deformações das flores com as deformações dos frutos (carpeloidia e pentandria), ou seja, a época de maior deformação das flores foi o verão e não o inverno, como esperado, mesmo considerando o espaço de tempo entre a diferenciação floral e o desenvolvimento do fruto.

Awada (1958) observou que nas condições de cultivo do mamoeiro 'Solo' no Havaí, EUA, o fenômeno da carpeloidia dos estames ocorre durante os meses de inverno, quando baixas temperaturas noturnas e aumento da precipitação pluviométrica prevalecem. Da mesma forma, Marin e Gomes (1999), ao avaliar mamoeiro do grupo 'Solo' sob condições de cultivo irrigado no Norte do Espírito Santo, verificaram que os índices de carpeloidia das flores variaram entre 10% e 20% durante os meses mais frios do ano (abril a setembro), onde as temperaturas médias diárias foram inferiores a 17°C. Entretanto, durante os meses mais quentes (outubro a março), quando ocorreram temperaturas superiores a 38°C, associadas ao excesso de umidade do solo, verificaram-se índices de carpeloidia entre 5% e 10%.

O tratamento RC<sub>2</sub> apresentou a maior ocorrência e maior variação do número de frutos carpelóides em suas plantas em todas as épocas, mostrando também uma considerável estabilidade na expressão dessa característica nas

mesmas. Silva *et al.* (2006) argumentam que as deformações florais e, conseqüentemente, do fruto em gerações segregantes resultantes dos retrocruzamentos, provavelmente, são em parte devido à herança genética do genótipo 'Cariflora', uma vez que na condição dióica esta característica jamais se expressaria. Em contrapartida, o genitor doador é um genótipo elite presente em muitas lavouras comerciais, apresentando maior uniformidade e baixo nível de expressão de deformações, o que é corroborado pelos dados aqui apresentados. O 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, em geral, apresentou a menor expressão de frutos carpelóides, não sendo observado semelhante desempenho apenas na primavera onde o Golden apresentou a menor média, porém, essas médias não diferiram estatisticamente.

A ocorrência de frutos pentândricos (NFrP) foi, em geral, 15% maior do que a ocorrência de carpeloidia. Por outro lado, as duas características tiveram sua expressão mais pronunciada durante os meses do verão. Os tratamentos 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub> apresentaram as maiores médias para a característica durante as quatro épocas, sendo o RC<sub>2</sub> significativamente superior durante o inverno, primavera e verão, e inferior durante o outono. A expressão do NFrP foi nula para o 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> nas quatro épocas, demonstrando um desempenho superior aos genótipos elites Golden e SS 783, visto que esses apresentaram uma expressão nula em apenas três épocas. Não obstante o verão ter sido a época de maior ocorrência desse tipo de deformação do fruto, os tratamentos que apresentaram maior sensibilidade para a sua expressão (52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>), tiveram suas maiores médias nos meses do outono e primavera, respectivamente.

O número de frutos comerciais (NFrCo), em geral, foi significativamente maior no verão em relação a primavera e ao outono, porém apresentou apenas uma leve superioridade em relação ao inverno (1,63 unidades). Resultado semelhante foi observado para o número de frutos totais, no entanto, para esta característica a diferença foi significativamente maior (4,33 unidades). Uma explicação para essa diminuição na expressão de frutos comerciais em relação ao número de frutos totais no verão está na maior expressão de deformações do fruto (pentandria e carpeloidia) durante essa época, contribuindo para um decréscimo da produção. Os maiores valores médios para produção de frutos comerciais no inverno foram apresentados pelos tratamentos SS 783 e 72/12 x RC<sub>1</sub> seguido do Golden, e as menores médias pelo RC<sub>2</sub> e 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, respectivamente.

As maiores médias entre os tratamentos segregantes, tanto para o NFrT quanto para o NFrCo, foram apresentadas pelo 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e 72/12 x RC<sub>1</sub>, sendo as médias desse último superior em três das quatro épocas avaliadas, com exceção apenas da primavera onde a maior expressão ocorreu no tratamento 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>. Entretanto, nenhuma dessas médias diferiu estatisticamente das apresentadas pelos genótipos elites SS 783 e Golden para as duas características consideradas. Esses resultados são bastante satisfatórios, visto que pode possibilitar, futuramente, o plantio de diferentes materiais genéticos, visando o aumento da diversidade no campo e, principalmente, a redução da flutuação da produção. A adoção de genótipos nas lavouras com este comportamento na expressão do NFrT e, principalmente do NFrCo, refletirá em uma distribuição regular da frutificação e da safra durante o ano, reduzindo assim, a oscilação na oferta e no preço do fruto.

Silva *et al.* (2006a), ao avaliar a expressão sexual do mamoeiro em uma população RC<sub>1</sub> e no genótipo elite Golden, durante o inverno e verão de 2003 no município de Linhares-ES, verificaram que as deformações do fruto (carpeloidia e pentandria) são verificadas em maior número durante o verão na população RC<sub>1</sub>. Já no Golden a expressão dessa característica foi quase nula durante as duas épocas. Os autores ainda afirmam que apesar da população RC<sub>1</sub> ter apresentado menor produção média de frutos comerciais (em relação ao Golden) durante o verão, esta população mostrou-se promissora para a seleção de plantas altamente produtivas, com expressão baixa ou nula de carpeloidia e pentandria, devido à variação encontrada entre as plantas em ambas as épocas.

Assim como previsto pelos autores acima, ao verificar o resultado das avaliações na população RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, observa-se uma considerável variação entre os tratamentos quanto a expressão das deformações do fruto, confirmado pelos altos valores do coeficiente de variação genético (Tabela 5 e 6). Essa variabilidade encontrada indica uma tendência para a identificação e seleção de genótipos superiores para avançar gerações, com uma boa produção e baixa expressão dessas deformações. Apesar de o NFrP ter apresentado uma média geral maior em relação ao NFrC, a distribuição desse tipo foi menos uniforme, ou seja, houve tratamentos segregantes que apresentaram muitos frutos e outros com pouco ou nenhum fruto pentândrico, ao contrário da carpeloidia. Awada (1958), citado por Almeida *et al.* (2003), relata que a pentandria e a carpeloidia indica uma tendência

da planta hermafrodita mudar o sexo de suas flores para feminina, devido a condições de alta umidade, altos teores de nitrogênio e de água no solo, produzindo frutos deformados. Talvez seja essa a explicação para a maior expressão desses caracteres no RC<sub>2</sub> seguido do 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, materiais muito próximos geneticamente do genótipo Cariflora.

### 3.1.5.3. Estimação dos parâmetros genéticos

As análises de variância geral, bem como dos valores de médias, da estimativa de alguns parâmetros genéticos estão apresentados na Tabela 1. As estimativas do coeficiente de variação experimental (C<sub>Ve</sub>), que permite avaliar a precisão do experimento, variaram de 14% a 33%, sendo que a metade das características (NFrT, NFrCo, NFHT e NFHD) apresentaram valores iguais ou próximos a 15%. Os demais caracteres (NFrC, NFrP, NFHE e NFHN) apresentaram valores do coeficiente de variação superior a 20%, indicando forte influência das variações ambientais sobre a expressão das mesmas.

De acordo com os critérios de classificação de Pimentel-Gomes (2000), das oito características avaliadas, 50% apresentaram C<sub>Ve</sub> de médio à baixo (NFrT, NFrCo, NFHT e NFHD), enquanto as demais apresentaram valores que vão de alto a muito alto (NFrC, NFrP, NFHE e NFHN). De acordo com esse autor, quando esses coeficientes de variação são encontrados em ensaios de competição no campo, podem ser considerados baixos quando inferiores a 10%, médios quando de 10% a 20%, altos quando de 20% a 30% e muito altos quando superior a 30%. Entretanto, pode-se inferir que esses valores de C<sub>Ve</sub> estão dentro dos limites aceitáveis, visto que em outros trabalhos realizados com essa cultura (Silva *et al.*, 2006b; Damasceno Júnior, 2004) foram encontrados maiores variações entre os C<sub>Ve</sub> das diferentes características, com valores até três vezes maior do que o mais alto C<sub>Ve</sub> apresentados neste trabalho, sugerindo maior estabilidade na expressão dessas características na população RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, 72/12 x RC<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>, além dos genótipos elites.

A análise das estimativas do coeficiente de variação genético (C<sub>Vg</sub>) nos permite realizar uma comparação da variabilidade genética entre os diferentes caracteres avaliados. Sendo assim, observa-se que os valores obtidos para o C<sub>Vg</sub> variaram de 8% à 82%, retratando a existência de uma ampla variabilidade

genética entre os tratamentos, úteis para o melhoramento da cultura. Com exceção do número de flores hermafroditas normais (NFHN), todas as características apresentaram um elevado CVg, com valores maiores do que o CVe. De acordo com Faleiro *et al.* (2001), para se ter uma idéia real da situação de cada característica visando o melhoramento, é necessário analisar o CVg, juntamente com o CVe, por meio da relação CVg/CVe, ou seja, analisando o índice de variação (lv) de cada característica, que deve ser maior do que a unidade, indicando presença de ampla variabilidade genética. Partindo desse princípio, observa-se que com exceção do NFrC e NFHN, que tiveram valores do lv iguais e inferiores a unidade, respectivamente, todos os demais caracteres têm níveis satisfatórios de variabilidade, úteis para o programa de melhoramento do mamoeiro.

Com relação ao coeficiente de determinação genotípico ( $H^2$ ), que determina a fração herdável da média, as estimativas foram superiores a 75% para sete das oito características avaliadas. A menor estimativa do  $H^2$  foi apresentada pelo número de flores hermafroditas normais (NFHN), com o valor de 38,82%, indicando a existência de pouca variabilidade genética para esta característica, e uma grande participação do fator ambiental na expressão da mesma. Esse baixo valor de  $H^2$  para o NFHN pode ser considerado insatisfatório para o sucesso da seleção, visto que esse caráter é considerado um determinante primário para a produção. Por outro lado, o número de frutos comerciais (NFrCo), que também está intimamente relacionado à produção, apresentou um elevado valor de  $H^2$  (96,44%). Embora o NFHN esteja diretamente associado ao NFrCo, os valores de  $H^2$  foram distintos, inviabilizando a seleção indireta para frutos comerciais a partir das flores hermafroditas normais. Sendo assim, maior eficiência será alcançada a partir da avaliação da frutificação em vez da floração, tornando o processo de avaliação mais rápido, prático e direto. Quanto à reversão sexual, já que não há desenvolvimento de frutos, sua avaliação pode ser feita a partir da mensuração do “pescoço” (parte na região de frutificação onde não há desenvolvimento de fruto), sendo este também um método prático e rápido, contribuindo para um maior êxito na seleção. Porém, é importante ressaltar que a reversão sexual não é o único fator que promove a queda das flores.

As demais características tiveram estimativas para o coeficiente de determinação genotípico relativamente altos, com valores que variaram de

77,27% à 97,19%, sendo esse maior valor apresentado pelo número de flores hermafroditas deformadas (NFHD), uma característica indesejável. Mesmo o  $H^2$  não sendo um coeficiente de herdabilidade ( $h^2$ ), essas altas estimativas refletem uma expectativa de ganhos genéticos elevados e possibilitam uma maior eficiência no processo seletivo.

As análises de variância, bem como a estimativa de alguns parâmetros genéticos, importantes para os procedimentos de melhoramento genético, foram analisados por época para cada característica avaliada neste trabalho. Dessa forma, os resultados estão apresentados na Tabela 2.

As estimativas do coeficiente de variação experimental (CVe) mostrou-se maior durante as avaliações realizadas no outono, exceto para o NFrP e NFHE, que foram ligeiramente superiores durante inverno, sugerindo a existência de grande variação para expressão dessas características em plantas dentro dos tratamentos avaliados, além de ser indicativo de uma menor acurácia na adoção dos tratamentos. Em contrapartida, as menores estimativas para o CVe foram encontradas durante o verão, com exceção para o número de frutos carpelóides (NFrC), que apresentou seu menor valor durante a primavera, indicando que nas épocas especificadas houve baixa influência ambiental, e uma precisão experimental mais efetiva sobre a expressão desses caracteres. Os altos valores do CVe foram apresentados pelo NFrP durante o inverno e outono, pelo NFHE no verão, e pelo NFrC no outono, tendo este último obtido o valor mais alto entre todos os caracteres nas quatro épocas de avaliação. Esses resultados indicam que os caracteres que contribuem para a redução da produção, são os mais variáveis entre as plantas nos diferentes tratamentos, mostrando também uma acentuada sensibilidade a determinadas condições climáticas. Por outro lado, o NFHT e o NFrT apresentaram os mais baixos valores de CVe durante as quatro épocas de avaliação, demonstrando uma boa precisão experimental.

Os mais altos valores do coeficiente de variação genotípico (CVg) foram apresentados durante o inverno e primavera, com uma leve superioridade desta primeira onde foram encontrados os maiores valores para seis dos oitos caracteres avaliados. A exceção foi observada para o NFrP e NFHN, que apresentaram os maiores valores do CVg durante a primavera e outono, respectivamente, apontando essas épocas como as mais propícias para a realização de seleção de genótipos segregantes superiores. As duas

características apresentaram elevado CVg em três das quatro épocas avaliadas (inverno, primavera e outono), o que indica que estas podem ser mais afetadas pelas condições ambientais do verão, possivelmente as altas temperaturas. Esses resultados são confirmados pelos elevados valores de desvio padrão, situados acima da média (Tabela 5 e 6), com destaque para o tratamento RC<sub>2</sub> seguido pelo 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, tanto para o NFrP quanto para o NFHD.

Em geral, os menores CVg foram encontrados durante o verão e outono, sendo que dos oito caracteres avaliados cinco apresentaram o CVg mais baixo durante o verão (NFrC, NFrP, NFHT, NFHD e NFHE), e três durante o outono (NFrT, NFrCo e NFHN), indicando que estas não são as melhores épocas para realizar seleção das características citadas. Assim, o verão se destaca como a época de menor variação tanto experimental (CVe) quanto genético (CVg). O NFrC e o NFHN juntos apresentaram os menores valores do CVg nas quatro épocas de avaliação, sendo que este primeiro teve maior destaque durante o verão e outono, enquanto que o NFHN manifestou altos valores em todas as épocas, com destaque para o verão e outono. O NFHN, considerado um dos caracteres determinantes primários para a produção, apresentou um dos menores valores tanto para o CVe quanto para o CVg. Esses resultados reforçam as análises realizadas a partir das médias e desvios padrão (Tabela 5 e 6), onde foi verificado baixa variação tanto dentro quanto entre os tratamentos.

Analisando o coeficiente de determinação genotípica ( $H^2$ ) nas diferentes épocas de avaliação, observa-se que durante o inverno e a primavera uma elevada variabilidade genética foi manifestada para todas as características avaliadas, resultado corroborados pelos altos valores do índice de variação (Iv) estimados nas diferentes épocas e pelos valores do CVg. Enquanto nas duas épocas citadas acima todas as características apresentam altos valores de  $H^2$ , durante as avaliações realizadas no verão observa-se um ligeiro aumento dessa variável para algumas características (NFrT, NFrCo, NFHT e NFHD), e para outras observa-se uma leve (NFrP e NFHE) e até acentuada (NFrC e NFHT) redução desses valores. Durante o outono observa-se que houve uma continuidade da redução do  $H^2$ , podendo-se considerar acentuada para a maior parte das características. Exceção para este comportamento é observado para o NFHE, que apresentou um leve aumento do  $H^2$  em relação as avaliações realizadas no verão.

Com base nesses resultados pode-se inferir que a expressão de todas as características durante o inverno e a primavera é determinada mais por fatores genéticos do que ambientais, sendo então essas épocas indicadas para a seleção. Por outro lado, durante o verão ocorre uma maior participação dos fatores ambientais na expressão de algumas características, principalmente na produção de frutos carpelóides e de flores hermafroditas normais. No outono essa participação do ambiente é ainda maior, influenciando bastante a expressão de parte dos caracteres, com exceção para NFrP, NFHT, NFHD e NFHE, que mantiveram durante as quatro épocas maior participação do fator genético em sua expressão.

#### **3.1.5.4. Estimação do coeficiente de correlação genotípica**

Como em geral, em um programa de melhoramento objetiva-se selecionar os genótipos não para caracteres isolados, mas para um conjunto de caracteres simultaneamente, o estudo das correlações é de grande importância, pois permite quantificar a magnitude e direção da influência de uma determinada característica sobre outra (Cruz e Regazzi, 1997; Vencovsky, 1978). A correlação entre duas variáveis pode ser de natureza fenotípica, genotípica ou ambiental, porém só as correlações genotípicas envolvem uma associação de natureza herdável, sendo de grande importância para orientação de programas de melhoramento (Falconer, 1987).

As estimativas dos coeficientes de correlação genotípica conjunta estão apresentadas na Tabela 7. Observa-se que apenas seis das vinte e oito combinações possíveis entre os oito caracteres avaliados foram significativas ao nível de 1% de probabilidade, com valores que variaram de -0,83 a 0,98 e apenas cinco ao nível de 5% de probabilidade, com valores variando de -0,77 a 0,77. Esse pequeno número de correlações significativas pode estar relacionado a um baixo número de tratamentos e repetições na composição do experimento, resultando em um pequeno grau de liberdade, fazendo com que algumas correlações não fossem consideradas significativas. Sendo assim, para simplificar as análises, neste estudo foram consideradas apenas as correlações significativas ao nível de 1% e 5% de probabilidade. Das combinações que manifestaram correlações significativas, aproximadamente 40% apresentaram sinal negativo.

**Tabela 7.** Estimativas dos coeficientes de correlação genotípica conjunta, com base na média dos períodos, entre os caracteres morfoagronômicos analisados em gerações segregantes e em genótipos elites de mamoeiro

<b>Características</b>	NFrT	NFrC	NFrP	NfrCo	NFHT	NFHD	NFHE	NFHN
NFrT	-	-0,52	-0,57	0,98**	-0,83**	-0,48	-0,72*	-0,51
NFrC		-	0,93**	-0,66	0,19	0,91**	-0,06	0,02
NFrP			-	-0,71*	0,29	0,98**	0,02	0,08
NFrCo				-	-0,77*	-0,63	-0,62	-0,45
NFHT					-	0,20	0,95**	0,77*
NFHD						-	-0,05	-0,09
NFHE							-	0,71*
NFHN								-

NFrT= número de frutos totais; NFrC= número de frutos carpelóides; NFrP= número de frutos pentândricos; NfrCo= número de frutos comerciais; NFHT= número de flores hermafroditas totais; NFHD= número de flores hermafroditas deformadas; NFHE= número de flores hermafroditas estéreis; NFHN= número de flores hermafroditas normais; \*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade

O número de frutos totais (NFrT) correlacionou-se negativamente com o número de flores hermafroditas totais (NFHT) (-0,83), ao nível de 1% de probabilidade, e em uma magnitude um pouco menor com o número de flores hermafroditas estéreis (NFHE) (-0,72), ao nível de 5% de probabilidade. Esses dados sugerem que a manifestação de um grande número de flores não necessariamente resultará em um número maior de frutos, o que é evidenciado também pela correlação negativa do NFrT com o NFHE, indicando que a seleção para menor manifestação deste último representa uma tendência de aumento de produção. Por outro lado, o NFrT apresentou uma positiva e alta correlação genotípica (0,98) com o número de frutos comerciais (NFrCo), resultado esperado, uma vez que quanto maior o número de frutos na planta, maior a chance de ele ter um padrão comercial. Além disso, essa correlação vem reforçar os resultados encontrados na análise das médias, no qual ficou evidenciado a existência de uma relação muito estreita entre esses caracteres. Entre todas as correlações envolvendo o NFrCo, essa foi a única que apresentou valor positivo e

de alta magnitude, indicando ser o NFrT a característica mais importante quando se deseja selecionar genótipos de mamão mais produtivos.

Silva *et al.* (2006c), ao avaliar a correlação genotípica dos componentes de produção com características da planta, verificaram que o NFrT, assim como o NFrCo, apresentaram correlações negativas com os caracteres peso médio do fruto (PMF) e comprimento médio do fruto (CMF). Os autores ainda sugerem que esse tipo de relação entre os caracteres pode estar relacionado às limitações de fotoassimilados para o desenvolvimento de um maior número de frutos, implicando a necessidade da prática de raleio de frutos, para que estes tenham peso e tamanho maior.

As deformações do fruto (carpeloidia e pentandria) apresentaram correlação genotípica positiva e de grande magnitude com o número de flores hermafroditas deformadas (0,91 e 0,98, respectivamente). O número de frutos carpelóides (NFrC) e o número de frutos pentândricos (NFrP) também apresentaram uma alta correlação genotípica entre si (0,93), ou seja, plantas com grande número de carpeloidia também apresentam muitos frutos pentândricos, sugerindo uma forte ligação genética entre esses dois caracteres. Esse resultado pode ser considerado satisfatório, uma vez que ao efetuar a seleção para baixos níveis de carpeloidia, resulta em uma seleção indireta para baixos níveis de pentandria e vice-versa. Segundo Cruz e Regazzi (1997), em alguns casos, é possível obter progressos genéticos mais rápidos com a seleção indireta com base na resposta correlacionada, do que a seleção direta do caráter desejado.

O número de flores hermafroditas deformadas (NFHD) compreende tanto as flores que originam os frutos carpelóides quanto as que originam frutos pentândricos, pois devido à grande dificuldade em se distinguir esses dois caracteres antes da antese, os mesmos podem ser classificados em uma única categoria. Assim, com base nos índices de correlação genotípica do NFrC e NFrP com NFHD, fica evidente a possibilidade de efetuar seleção indireta ao selecionar plantas no campo que manifestem baixo índice de deformação de suas flores, tendo em vista a grande necessidade de se detectar precocemente, em uma população segregante ou em um ensaio de competição, plantas que sejam mais produtivas.

Embora haja uma alta correlação genética entre o NFrC e NFrP, apenas este último apresentou correlação genotípica significativa com o número de frutos

comerciais (NFrCo). Esses dois caracteres apresentaram correlação negativa, ou seja, a ocorrência de um aumento em função de uma menor expressão do outro. Por outro lado, a baixa correlação genotípica entre o NFrC e o NFrCo pode ser um indicativo de grande influência do ambiente sobre a expressão desses dois caracteres, sobretudo flutuações de temperatura do ar e nutrição do solo. Nesse sentido, percebe-se na prática uma dinâmica na expressão do sexo, onde o grau de manifestação de deformação de flores em uma variedade implicará no desenvolvimento de maior ou menor número de frutos sem valor comercial, e sendo assim, influenciará nos números finais de produção.

O número de frutos comerciais (NFrCo) também correlacionou-se negativamente com o número de flores hermafroditas totais (NFHT), com uma magnitude de  $-0,77$ . Esse resultado é perfeitamente compreendido quando analisa-se a correlação dos pares formados pelo NFHT com o número de flores hermafroditas estéreis (NFHE) e o número de flores hermafroditas normais (NFHN). Estes apresentaram correlações positivas, destacando-se a elevada magnitude da correlação entre o NFHT e o NFHE ( $0,95$ ), em relação a observada entre NFHT e NFHN ( $0,77$ ). Fraife Filho *et al.* (2001) ressaltam que esse tipo de resultado evidencia a necessidade de condução da cultura do mamoeiro em níveis adequados de irrigação, bem como a produção de sementes a partir de plantas com baixo percentual de flores hermafroditas estéreis para que não haja redução na produtividade da lavoura.

Apesar dessa correlação entre NFHT e NFHE ser indesejável em um programa de melhoramento, este comportamento entre os dois caracteres pode representar um mecanismo de sobrevivência da planta, uma vez que esta sofreria um grande desgaste fisiológico se convertesse todas as flores em frutos, principalmente em épocas onde as condições climáticas são mais desfavoráveis para o desenvolvimento da planta. Por outro lado, o número de flores hermafroditas normais, também conhecidas como flores hermafroditas alongadas, que originam frutos com padrão aceito comercialmente, não apresentou uma correlação genética positiva e significativa com o número de frutos comerciais, indicando que em programas de melhoramento não se deve selecionar em uma população segregante plantas para maior produtividade com base apenas no número de flores hermafroditas normais, pois estas não são representativas do

NFrCo. Este é mais um indicativo da baixa eficiência em se avaliar a floração para subsidiar o processo de seleção em gerações segregantes.

Correlação genética obtida entre o número de flores hermafroditas normais (NFHN) e o número de flores hermafroditas estéreis (NFHE) apresentou valor positivo e alto (0,71). Quando dois ou mais caracteres apresentam correlação genética favorável, é possível alcançar ganhos para um deles por meio da seleção indireta no outro associado. No entanto, entre os dois caracteres citados acima a correlação genética é considerada desfavorável, indicando que poderá ser difícil selecionar genótipos de mamão com maior produção de flores hermafroditas normais e menor expressão da reversão sexual. Por outro lado, mesmo ocorrendo correlações indesejáveis de alta magnitude, essas podem não representar ligação completa, indicando a possibilidade de obter recombinantes promissores, que apresentem baixa expressão de caracteres que contribuem para redução da produção, como por exemplo, as deformações florais e a reversão do sexo.

Considerando que a presente população encontra-se em desequilíbrio de ligação, as correlações genéticas entre caracteres podem ser atribuídas tanto a ligação gênica quanto a pleiotropia. Desse modo, se determinados caracteres são controlados por genes pleiotrópicos, existirá uma correlação genética permanente entre eles. Por outro lado, se a causa da correlação for ligação gênica do tipo parcial, poderá eventualmente ocorrer uma permuta durante o processo de formação dos gametas, podendo esta correlação deixar de existir.

Com relação às estimativas das correlações genéticas efetuadas em cada estação do ano, envolvendo as características relacionadas à floração e a frutificação (Tabela 8), é possível observar que não houve novas correlações significativas entre os pares de caracteres avaliados, notando-se apenas uma alteração na manifestação das mesmas.

Entre as quatro épocas de avaliação, o inverno se destacou por apresentar o maior número de correlações genéticas significativas, sendo que 100% dessas apresentou valor positivo. Constata-se também que houve uma concordância de sinais entre a estimativa de correlação geral e a realizada durante o inverno, no entanto, nesta última a magnitude das correlações foi levemente superior, alcançando os maiores valores entre todas as épocas de avaliação. Nas demais estações, apenas 14% das correlações foram significativas



Tabela 8, Cont.

Outono (época 4)								
NFrT	-	0,03	-0,12	0,96**	-0,80*	-0,21	-0,75	-0,42
NFrC		-	0,42	-0,18	0,11	0,75	0,03	-0,19
NFrP			-	-0,37	0,17	0,68	0,12	-0,24
NFrCo				-	-0,80*	-0,46	-0,73	-0,32
NFHT					-	0,11	0,97**	0,51
NFHD						-	0,04	-0,43
NFHE							-	-0,43
NFHN								-

NFrT= número de frutos totais; NFrC= número de frutos carpelóides; NFrP= número de frutos pentândricos; NFrCo= número de frutos comerciais; NFHT= número de flores hermafroditas totais; NFHD= número de flores hermafroditas deformadas; NFHE= número de flores hermafroditas estéreis; NFHN= número de flores hermafroditas normais; \*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade

com magnitudes menores e alguma vezes até maiores do que as apresentadas na análise geral.

Entre todas as correlações significativas, apenas as apresentadas pelo número de frutos comerciais (NFrCo) com o número de frutos totais (NFrT) e pelo número de flores estéreis (NFHE) com o número de flores totais (NFHT) estiveram presentes em todas as épocas de avaliação, sugerindo que a relação genética entre essas características é estreita, e pouco influenciada pelas flutuações das condições climáticas. Sendo assim, a seleção indireta com base nessas correlações pode ser efetuada em qualquer época, com grande chance de êxito na maximização do ganho genético.

Por outro lado, a correlação genética entre o número de flores hermafroditas normais (NFHN) com o NFHT e o NFHE mostrou-se significativa apenas no inverno, onde suas magnitudes foram as maiores registradas entre todas as épocas avaliadas (0,90 e 0,94, respectivamente). O comportamento das correlações entre esses pares de caracteres confirma o resultado da análise de médias (Tabelas 5 e 6), em que os mesmos apresentaram um desempenho semelhante. Da mesma forma, as correlações entre o NFrCo com o NFrP e o NFHT foram significativas apenas durante o verão e outono, respectivamente. Já

as correlações entre o NFHD com o NFrC e NFrP mostraram-se significativas e com elevada magnitude durante o inverno e primavera, épocas consideradas propícias para seleção voltada para menores níveis de expressão dessas anomalias florais. Na primavera, o par formado pelo NFHD e NFrP apresentou valor máximo de correlação entre dois caracteres, ou seja, a correlação entre eles alcançou a unidade. Para os demais pares de caracteres que apresentaram correlações significativas na análise geral, os valores nas diferentes épocas mostraram oscilação de significância, indicando bastante sensibilidade às flutuações climáticas.

Damasceno Júnior (2004), ao avaliar o comportamento floral de híbridos de mamoeiro durante os meses correspondentes ao verão e inverno, verificou que nesta primeira época apenas a correlação entre NFHE e NFHT foi significativa com valor positivo. No entanto, durante o inverno o autor encontrou coeficiente de correlação positivo e significativo entre NFHN e NFHT, enquanto que entre o NFHD e NFHN foi significativo e negativo. Das três correlações significativas encontradas pelo autor acima, apenas a que ocorreu entre NFHD e NFHN não correspondeu ao resultado encontrado no presente trabalho.

Com relação à análise das correlações genéticas realizadas entre a floração de uma época com seus respectivos frutos na época seguinte (Tabela 9), observa-se que entre a floração ocorrida no inverno (época 1) e a frutificação da primavera (época 2) apenas as correlações entre o NFHD com o NFrC e NFrP foi significativa, apresentando valores positivos e de alta magnitude (0,95 e 0,94, respectivamente). Esses resultados sugerem que além dessas correlações poderem ser usadas em procedimentos de seleção quando esses caracteres forem avaliados em uma mesma época, podem prever o comportamento dos genótipos para tais caracteres na época seguinte e, assim, podem nortear procedimentos de seleção nos programas de melhoramento do mamoeiro, pois não representam apenas uma situação momentânea.

Ao estimar a correlação genética entre a floração do inverno e a frutificação do verão (época 3), pode-se constatar que o NFHT correlacionou-se significativamente, porém com valor negativo com o NFrT e com o NFrCo. Resultado semelhante foi observado apenas na análise geral e durante as avaliações realizadas no outono, indicando que apesar desse comportamento ser uma resposta a uma determinada condição climática, em geral, o NFHT pode ser

**Tabela 9.** Estimativas dos coeficientes de correlações genotípicas conjunta, entre os caracteres relacionados à floração de uma época com a frutificação da época seguinte, analisados em gerações segregantes e em genótipos elites de mamoeiro

<b>Características</b>	NFrT <sup>2</sup>	NFrC <sup>2</sup>	NFrP <sup>2</sup>	NFrCo <sup>2</sup>	NFrT <sup>3</sup>	NFrC <sup>3</sup>	NFrP <sup>3</sup>	NFrCo <sup>3</sup>
NFHT <sup>1</sup>	-0,50	0,57	0,38	-0,61	-0,89**	0,10	0,61	-0,88**
NFHD <sup>1</sup>	-0,005	0,95**	0,94**	-0,55	-0,70	0,20	0,84*	-0,73
NFHE <sup>1</sup>	-0,60	0,05	-0,60	-0,41	-0,53	-0,13	0,11	-0,48
NFHN <sup>1</sup>	-0,44	0,27	-0,02	-0,34	-0,69	0,17	0,39	-0,67
NFHT <sup>2</sup>	-	-	-	-	-0,77	0,03	0,68	-0,77
NFHD <sup>2</sup>	-	-	-	-	-0,72	0,39	0,82*	-0,75
NFHE <sup>2</sup>	-	-	-	-	-0,50	-0,07	0,24	-0,47
NFHN <sup>2</sup>	-	-	-	-	-0,52	-0,09	0,65	-0,54

NFrT= número de frutos totais; NFrC= número de frutos carpelóides; NFrP= número de frutos pentândricos; NFrCo= número de frutos comerciais; NFHT= número de flores hermafroditas totais; NFHD= número de flores hermafroditas deformadas; NFHE= número de flores hermafroditas estéreis; NFHN= número de flores hermafroditas normais; \*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; <sup>1</sup>: avaliações realizadas no inverno; <sup>2</sup>: avaliações realizadas na primavera; <sup>3</sup>: avaliações realizadas no verão

determinante na predição da produção até seis meses após o seu desenvolvimento. Além disso, pode-se dizer que a correlação negativa encontrada entre esses caracteres está diretamente associada à correlação alta e positiva entre o NFHT e NFHE, tanto na análise geral quanto nas diferentes épocas de avaliação.

Além das correlações citadas, verificou-se valor positivo e significativo entre o NFHD e o NFrP, tanto nas avaliações entre a época 1 e 3 quanto entre a época 2 e 3, retratando a ocorrência de uma estreita relação genética entre esses dois caracteres, sendo esta correlação indicativo da viabilidade de êxito na seleção precoce de genótipos menos afetados pelas deformações florais, indicando a possibilidade de esse caráter ser utilizado na seleção de genótipos mais produtivos.

### 3.1.5.5. Estimação do ganho genético

Embora para obter materiais genéticos realmente superiores seja mais indicada a aplicação da teoria de índice de seleção, por permitir a reunião simultânea de uma série de atributos favoráveis em um mesmo genótipo (Cruz e Carneiro, 2003), a seleção direta, realizada com base em uma ou poucas características, pode ser muito informativa e efetiva no que se refere a identificação de genótipos promissores para a manifestação de maiores ganhos em uma característica para o qual será praticada a seleção.

A seleção entre e dentro fundamenta-se nas médias das famílias e no desvio do valor individual e é mais fácil de ser aplicada. Por outro lado, a seleção combinada baseia-se em um índice que considera, simultaneamente, o desempenho do indivíduo e da sua família (Costa et al., 2000, citado por Silva et al., 2006d). Assim, no presente trabalho, a seleção foi procedida apenas dentro dos tratamentos devido ao baixo número de famílias segregantes, além de ter sido estimado o ganho apenas no inverno, primavera e verão, em função do baixo número de plantas avaliadas durante o outono.

Como pode ser constatado na análise dos resultados (Tabela 10), para a característica produção por planta, de modo geral, houve ganho genético satisfatório em todos os cinco tratamentos segregantes avaliados, com valores acima de 40% para todos os tratamentos. Considerável destaque foi apresentado pelo tratamento RC<sub>2</sub>, seguido pelo 115 RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, que apresentaram ganho genético percentual de 107,40% e 91,82%, respectivamente. Por outro lado, o tratamento 72/12 x RC<sub>1</sub> manifestou o menor ganho, com magnitude de 45,57%. Esses resultados retratam a verdadeira proporção do ganho para produção entre os tratamentos, uma vez que foi realizada uma seleção direcionada apenas para esta característica, considerando uma pressão de seleção de 15%.

Apesar de ter apresentado elevada expressão para as deformações de frutos e flores, fatores que contribuem para um decréscimo na produção, o tratamento RC<sub>2</sub> apresentou na análise geral o maior ganho percentual entre os demais tratamentos segregantes. A explicação para este resultado está na estrutura genética dessa população, uma vez que este material está mais próximo geneticamente do Cariflora (genitor recorrente), um genótipo altamente segregante, com uma proporção média de 87,5% do seu genoma. Sendo assim, o

**Tabela 10.** Estimativa do ganho genético com base em seleção direta sobre a característica produção por planta (Prod/Plt), simultaneamente nos diferentes tratamentos segregantes

Trat.	Inverno							
	Xs	Xo	$\Delta_s$	$\hat{\sigma}_p^2$	$\hat{\sigma}_G^2$	$h^2(\%)$	$\Delta_G$	$\Delta_G(\%)$
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	31,8	16,25	15,55	74,28	20,66	28	4,35	26,77
52RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	38,02	20,67	17,35	97,56	43,94	45	7,81	37,78
115RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	56,82	31,40	25,41	383,39	330,77	86	21,86	69,62
72/12 x RC <sub>1</sub>	38,07	23,92	14,15	76,76	23,14	30	4,24	17,73
RC <sub>2</sub>	39,10	18,62	20,47	151,53	97,91	65	13,31	71,48
Primavera								
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	16,76	7,29	9,47	28,5	6,73	24	2,27	31,14
52RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	34,46	16,09	18,37	92,01	70,24	73	13,41	83,34
115RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	20,05	11,47	8,59	89,89	68,12	76	6,53	56,93
72/12 x RC <sub>1</sub>	22,16	9,41	12,75	51,17	29,40	57	7,27	77,26
RC <sub>2</sub>	20,05	8,08	11,96	42,47	20,70	49	5,86	72,52
Verão								
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	36,29	19,05	17,24	127,41	95,21	75	12,93	67,87
52RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	38,54	20,78	17,73	134,97	102,77	76	13,50	64,97
115RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-
72/12 x RC <sub>1</sub>	33,41	20,65	12,75	51,43	19,23	37	4,72	22,86
RC <sub>2</sub>	54,08	26,64	27,44	284,76	252,56	89	24,42	91,67
Geral								
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	30,26	13,05	17,22	87,85	32,66	37	6,40	49,04
52RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	37,25	18,82	18,43	105,76	50,57	48	8,81	46,81
115RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	49,33	23,24	26,09	303,31	248,12	82	21,34	91,82
72/12 x RC <sub>1</sub>	35,11	17,71	17,40	102,90	47,71	46	8,07	45,57
RC <sub>2</sub>	42,45	17,03	25,43	196,72	141,53	72	18,29	107,40

Trat. = tratamento; Xs = média das plantas selecionadas; Xo = média original do tratamento;  $\Delta_s$  = diferencial de seleção;  $\hat{\sigma}_p^2$  = variância fenotípica;  $\hat{\sigma}_G^2$  = variância genotípica;  $h^2$  = coeficiente de herdabilidade;  $\Delta_G$  = ganho genético;  $\Delta_G(\%)$  = ganho genético percentual

que se espera neste tratamento é uma ampla variabilidade genética, que por sua vez é o fator principal para a obtenção de ganhos satisfatórios. Além do RC<sub>2</sub>, o 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> também apresentou um alto percentual de ganho genético, o que já é mais esperado, visto que este tratamento apresentou uma expressão satisfatória para os caracteres que contribuem positivamente para a produção, apesar de também ter apresentado um alto grau e reversão sexual.

Ao analisar as estimativas de ganho genético por época, verifica-se que para a produção o ganho em cada tratamento está variando em função das condições climáticas peculiar de cada época. Assim, pode-se observar que para o tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> o maior ganho foi observado no inverno, ao passo que para o 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e 72/12 X RC<sub>1</sub> e para o 16RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub> o maior valor para o ganho foi registrado durante a primavera e verão, respectivamente. O tratamento RC<sub>2</sub> apresentou ganho satisfatório em todas as três épocas avaliadas, tendo se destacado entre os demais tratamentos durante o inverno e verão. Sendo assim, os procedimentos de seleção podem ser aplicados neste tratamento tanto no verão, onde foi apresentado o maior ganho, quanto no inverno e primavera, com grande chance de obter genótipos altamente produtivos.

Com exceção do tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, todos os tratamentos apresentaram um menor ganho durante o inverno. Dessa forma, indicar apenas uma época para seleção de genótipos mais produtivos não seria uma prática interessante, visto que os tratamentos segregantes se comportam de forma diferente quando submetidos aos mesmos estímulos ambientais. No caso particular da característica produção, esta variação pode ser maior devido à grande influência dos fatores ambientais na manifestação de outros caracteres como a esterilidade feminina, as deformações florais, que afetam diretamente a produção em maior ou menor grau. Sendo assim, pode-se inferir que a época menos favorável para realizar seleção para produção é o inverno, com exceção do tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>.

Silva *et al.* (2006d), ao estimar o ganho genético em uma população segregante de mamoeiro por meio da seleção combinada, verificaram ganhos satisfatórios em todos os tratamentos para a característica produção. Ao comparar diferentes estratégias para estimação do ganho genético, os autores verificaram que para alguns tratamentos segregantes a seleção direta para a produção de

frutos comerciais foi tão efetiva quanto a seleção combinando seis características simultaneamente.

As estimativas do ganho genético sobre a característica frutos deformados (NFrD) (Tabela 11), que consiste no somatório dos frutos carpelóides e pentândricos, foram relativamente elevadas para todos os tratamentos segregantes, com exceção para o tratamento 72/12 x RC<sub>1</sub>, onde foi observada uma redução de apenas 35% na expressão dessa característica, tanto na análise geral quanto na avaliação realizada durante o verão.

O tratamento 72/12 x RC<sub>1</sub> é um material genético mais próximo dos genótipos do grupo Solo, visto que foi derivado do cruzamento entre o genótipo elite SS 72/12 com uma planta de geração RC<sub>1</sub>. Dessa forma, espera-se que as plantas deste tratamento sejam mais homogêneas, ou seja, apresentem menos variação do que aquelas encontradas nos tratamentos da geração RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>. De posse da menor variabilidade genética entre todos os tratamentos avaliados, é perfeitamente aceitável que o 72/12 x RC<sub>1</sub> apresente também o menor ganho. Porém, além da diversidade genética este tratamento apresentou baixa expressão dessa característica, fato que pode ter contribuído para um menor ganho.

Observa-se na Tabela 11, que na análise geral para o ganho genético sobre a característica NFrD, o tratamento RC<sub>2</sub> se destacou com ganho de 94,84%, seguido pelo 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, que apresentou um ganho percentual de 86,79%, comportamento semelhante ao apresentado para o ganho quando considerado a característica produção. Durante as avaliações nas diferentes épocas a maior porcentagem de ganho permaneceu sendo apresentada pelo tratamento RC<sub>2</sub>, com maior manifestação observada durante o inverno (98,10%) apesar da maior herdabilidade neste tratamento ter sido observada durante a primavera (99%). Outra explicação para a ocorrência dos maiores ganhos no tratamento RC<sub>2</sub> está no número de plantas avaliadas. Nesse tratamento as avaliações foram realizadas no dobro de plantas avaliadas nos demais tratamentos, devido a sua natureza genética, ou seja, por ser um material muito segregante.

De maneira geral, observa-se que na primavera houve os maiores ganhos para todos os tratamentos, indicando ser uma época bastante favorável para realizar a seleção, sendo esta efetiva em reduzir a expressão dessa característica indesejável na geração seguinte. Por outro lado, o inverno mais uma vez se mostrou uma época menos propícia para a realização da seleção quando

**Tabela11.** Estimativa do ganho genético com base em seleção direta sobre a característica NFrD (número de frutos deformados), simultaneamente nos diferentes tratamentos segregantes

<b>Inverno</b>								
<b>Trat.</b>	<b>Xs</b>	<b>Xo</b>	$\Delta_s$	$\hat{\sigma}_P^2$	$\hat{\sigma}_G^2$	<b>h<sup>2</sup>(%)</b>	$\Delta_G$	$\Delta_G$ (%)
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,00	0,74	0,74	2,1	1,4	67	0,49	66,22
52RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,00	2,56	2,56	16,0	15,30	96	2,45	95,70
115RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-
72/12 x RC <sub>1</sub>	0,00	0,13	0,13	0,37	0	0	0	0
RC <sub>2</sub>	0,00	4,73	4,73	38,18	37,48	98	4,64	98,10
<b>Primavera</b>								
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,00	1,76	1,76	5,44	4,82	89	1,56	88,64
52RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,00	4,44	4,44	34,0	33,38	98	4,36	98,20
115RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-
72/12 x RC <sub>1</sub>	0,00	0,52	0,52	2,08	1,46	70	0,37	71,15
RC <sub>2</sub>	0,18	10,62	10,44	83,54	82,92	99	10,36	97,55
<b>Verão</b>								
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,17	5,07	4,90	21,79	16,69	77	3,75	73,96
52RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,00	4,63	4,63	17,27	12,17	70	3,27	70,63
115RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-
72/12 x RC <sub>1</sub>	0,50	3,70	3,20	7,32	2,22	30	0,97	26,22
RC <sub>2</sub>	0,27	6,50	6,23	40,53	35,43	87	5,44	83,69
<b>Geral</b>								
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,00	1,92	1,92	9,09	5,97	66	1,26	65,62
52RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,00	3,71	3,71	23,87	20,75	87	3,22	86,79
115RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-
72/12 x RC <sub>1</sub>	0,00	1,15	1,15	4,80	1,68	35	0,40	34,78
RC <sub>2</sub>	0,00	7,17	7,17	60,48	57,35	95	6,80	94,84

Trat. = tratamento; Xs = média das plantas selecionadas; Xo = média original do tratamento;  $\Delta_s$  = diferencial de seleção;  $\hat{\sigma}_P^2$  = variância fenotípica;  $\hat{\sigma}_G^2$  = variância genotípica; h<sup>2</sup> = coeficiente de herdabilidade;  $\Delta_G$  = ganho genético;  $\Delta_G$  (%) = ganho genético percentual

comparada com as demais épocas. No entanto, levando em consideração apenas os números, pode-se inferir que mesmo com os menores valores de ganho a seleção de genótipos nessa época não apresentaria grandes perdas em um programa de melhoramento, sendo possível a observação de resultados positivos.

Realizou-se também a estimação do ganho genético com base na seleção direta sobre a característica número de flores hermafroditas estéreis (Tabela 12), onde se constata a ocorrência de ganho elevado para todos os tratamentos, em todas as épocas, com valores acima de 50%. Além disso, verifica-se a manifestação de maior uniformidade entre os tratamentos quando comparado com os percentuais de ganho apresentados na estimação para produção e NFrD.

A partir da análise geral, verifica-se que o maior percentual de ganho genético é apresentado pelo tratamento 16 RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> (91,44%), seguido pelo RC<sub>2</sub> (88,93) e o menor pelo tratamento 72/12 x RC<sub>1</sub> (68,34). Apesar de todas as épocas terem manifestado elevados valores de ganho em todos os tratamentos, os maiores valores foram observados durante o inverno, indicando ser esta a época mais favorável para a seleção de genótipos que apresentará em uma geração futura menor expressão desse tipo de anomalia.

Analisando os resultados de ganho genético para o NFHE, verifica-se que apesar de o tratamento 115RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> ter apresentado os maiores níveis de expressão dessa característica em todas as avaliadas, não houve o mesmo desempenho para o ganho genético. Isso indica que apesar da grande ocorrência de reversão sexual nesse tratamento os números não foram muito variáveis, contribuindo para um ganho genético desproporcional.

De acordo com Nakasone (1988), citado por Damasceno Júnior (2004), a seleção de plantas de mamoeiro para baixas taxas de esterilidade feminina (reversão sexual) deve ser realizada nos meses mais quentes e/ou secos do ano. Sendo assim, considerando as condições em que foram obtidos os resultados nesse trabalho, verifica-se que o ideal seria realizar a seleção para baixa manifestação da reversão sexual durante os meses mais secos, ou seja, durante o inverno, visto que nesta época os tratamentos apresentaram altos valores do coeficiente de herdabilidade e, conseqüentemente, maiores ganhos genéticos. Por outro lado, o autor relata que o inverno é a época mais indicada para realizar a seleção para baixos níveis de anomalias florais, como a carpeloidia e visto que

**Tabela 12.** Estimativa do ganho genético com base em seleção direta sobre a característica NFHE (número de flores hermafroditas estéreis), simultaneamente nos diferentes tratamentos segregantes

Trat.	Inverno							
	Xs	Xo	$\Delta_s$	$\hat{\sigma}_P^2$	$\hat{\sigma}_G^2$	$h^2(\%)$	$\Delta_G$	$\Delta_G(\%)$
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,27	9,61	9,34	188,49	186,94	99	9,25	96,25
52RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,00	2,42	2,42	8,77	7,22	82	1,99	82,23
115RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	3,00	14,94	11,94	138,18	136,63	99	11,82	79,12
72/12 x RC <sub>1</sub>	0,00	1,48	1,48	10,25	8,70	85	1,26	85,13
RC <sub>2</sub>	0,00	2,54	2,54	20,57	19,02	92	2,34	92,13
Primavera								
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	3,71	26,79	23,07	749,31	732,65	98	22,61	84,40
52RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	2,46	11,77	9,31	92,18	75,52	82	7,63	64,83
115RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	19,00	54,27	35,27	1755	1738,36	99	34,92	64,34
72/12 x RC <sub>1</sub>	3,90	12,02	8,12	73,18	56,52	77	6,25	52,00
RC <sub>2</sub>	0,23	13,92	13,68	330,05	313,39	95	13,00	93,39
Verão								
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,57	7,80	7,23	46,23	40,12	87	6,29	80,64
52RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	2,5	10,30	7,8	54,08	47,97	89	6,94	67,38
115RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	11,00	23,60	12,60	155,30	149,19	96	12,10	51,27
72/12 x RC <sub>1</sub>	0,00	1,90	1,90	3,27	0	0	0	0
RC <sub>2</sub>	0,00	8,33	8,33	76,56	70,25	92	7,67	92,08
Geral								
16RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,79	16,35	15,55	468,39	450,30	96	14,95	91,44
52RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,00	7,69	7,69	69,97	51,87	74	5,70	74,12
115RC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	5,14	29,36	24,22	965,93	947,83	98	23,77	80,96
72/12 x RC <sub>1</sub>	0,00	5,56	5,56	57,34	39,25	68	3,80	68,34
RC <sub>2</sub>	0,00	7,86	7,86	163,59	145,50	89	6,99	88,93

Trat. = tratamento; Xs = média das plantas selecionadas; Xo = média original do tratamento;  $\Delta_s$  = diferencial de seleção;  $\hat{\sigma}_P^2$  = variância fenotípica;  $\hat{\sigma}_G^2$  = variância genotípica;  $h^2$  = coeficiente de herdabilidade;  $\Delta_G$  = ganho genético;  $\Delta_G(\%)$  = ganho genético percentual

esta é caracterizada por apresentar temperaturas mais frias que propicia a expressão dessas deformações. No entanto, os resultados obtidos no presente trabalho indicam que a primavera é a época mais favorável para seleção de genótipos menos afetados por essas deformações florais.

Os tratamentos que apresentaram os maiores ganhos percentuais para os diferentes caracteres avaliados neste trabalho, provavelmente são os que mais contribuíram para o valor do coeficiente de variação genética (CVg) das características correspondentes, indicando a possibilidade de praticar seleção de forma mais acurada, uma vez que se verifica maior confiabilidade do valor fenotípico médio apresentado pelas famílias em representar seus valores genéticos.

A disponibilidade de variabilidade genética para a maioria das características avaliadas, verificada pela análise da expressão sexual, análise de variância e pelos parâmetros genéticos pode ser confirmada pelos altos valores de ganho estimado para as principais características morfoagronômicas. Isso sugere que os materiais genéticos avaliados são promissores para a obtenção de gerações avançadas com plantas mais adaptadas, estáveis e menos responsivas a variações ambientais, contribuindo para obtenção de linhagens ou variedades com uma produção menos oscilante durante o ano. Além disso, as análises de correlação genotípica possibilitou o entendimento da interação entre os caracteres avaliados, indicando aqueles mais relevantes para a seleção de genótipos mais produtivos.

Assim, os resultados das análises estatísticas referentes às avaliações fenotípicas realizadas na população segregante de mamoeiro indicam que os materiais genéticos dispõem de uma ampla variabilidade genética para as características morfoagronômicas consideradas, possibilitando excelentes expectativas de ganho genético por meio da seleção, e com isso, aumentando a possibilidade de obtenção de materiais genéticos superiores a curto, médio e longo prazo.

### 3.1.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ainsworth C., Parker J., Buchanan-Wollaston V. (1998) Sex determination in plants. *Curr Top Dev Biol* 38:167–223.
- Allard, R.W. (1971) *Princípios do melhoramento genético das plantas*. São Paulo. Edgard Blucher, 381p.
- Almeida, F. T., Marinho, C. S., Souza, E. F., Grippa, S. (2003) Expressão sexual do mamoeiro sob diferentes lâminas de irrigação na região norte fluminense. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal – SP, v. 25, n. 3, 383-385 p.
- Alves, F. L., Pacova, B. E. V., Galveas, P. A. (2003) Seleção de plantas matrizes de mamão, grupo Solo, para produção de sementes. *In: Martins, D. S., Costa, A. A. F. (org.) A cultura do mamoeiro tecnologias de produção*. INCAPER, Vitória – ES, 103 – 114p.
- Aradhya, M. K., Manshardt, R. M., Zee, F., Morden, C. W. (1999) A phylogenetic analysis of the genus *Carica* L. (Caricaceae) based on fragment restriction length variation in a cpDNA intergenic spacer region. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 46:579-586.
- Araki, T. (2001) Transition from vegetative to reproductive phase. *Current opinion in Plant Biology* 4:63-68.
- Arkle Junior, T. D., Nakasone, H. Y. (1984) Floral differentiation in the hermaphroditic papaya plants (*Carica papaya* L.). *Hawaii Agricultural Experiment Station Progress Notes*, n. 97.

- Awada, M., Ikeda, W. S. (1957) Effects of water and nitrogen application on composition, growth, sugars in fruits, and Sex expression of the papaya plants (*Carica papaya* L.). University of Hawaii. *Hawaii Agricultural Experiment Station*, Technical Bulletin, n.38, 16p.
- Awada, M. (1958) Relationships of minimum temperature and growth rate with sex expression of papaya plants (*Carica papaya* L.). *Hawaii Agricultural Experiment Station*, Technical Bulletin 38: 1-16.
- Couto, F. A. D., Nacif, S. R. (1999) Hibridação em mamão. In: BORÉM. A. (org) *Hibridação artificial de plantas*. Viçosa. MG: UFV, 307-329p.
- Costa, A. F. S., Balbino, J. M. S., Andrade, J. S., Couto, A. O. F., Lima, R. C. A. Costa, A. N., Martins, D. S. (2003) Efeito das condições climáticas na frutificação do mamoeiro do grupo Solo no norte do estado Espírito Santo. In: Martins, D. S. (org.) *Papaya Brasil: Qualidade do mamão para o mercado interno*. INCAPER. Vitória, ES. 449-452p.
- Cruz, C. D., Carneiro, P. C. S. (2003) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: UFV, v.2, 585p.
- Cruz, C. D. (2001) Programa Genes (Versão Windows): aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 648p.
- Cruz, C. D., Regazzi, A. J. (1997) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Editora UFV, Viçosa, 390p.
- Cruz, C. D., Regazzi, A. J., Carneiro, P. C. S. (2004) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 1. ed. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 480p
- Dantas, J. L. L. , Morales, C. F. G. (1997). Estratégias para o melhoramento genético do mamoeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Cruz das Almas, v. 19, n. 1, p. 65-78.
- Damasceno Junior, P. C. (2004) *Estudo reprodutivo em mamoeiro (Carica papaya L.)*. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 74p.

- Falconer D. S. (1987) *Introdução à genética quantitativa*. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 279p.
- Faleiro, F. G., Cruz, C. D., Ragagnin, V. A., Souza, T. L. P. O., Moreira, M. A., Barros, E. G. (2001) Estimativa de parâmetros genéticos, correlações e análise de trilha em linhagens endogâmicas recombinantes de feijoeiro. *Agrotrópica* 13(3): 115-124.
- Fraife Filho G. A., Dantas J. L. L., Leite J. B. V., Oliveira J. R. P. (2001) Avaliação de variedades de mamoeiro no extremo sul da Bahia. *Magistra* 13: 37-41.
- Marin, S. L. D., Gomes, J. A. (1999) *Biologia floral do mamoeiro: aplicação na sexagem e no raleio de flores e frutos*. Vitória: Empresa Capixaba de Pesquisa Agropecuária, 19p. (EMCAPA. Circular Técnica).
- Manica, I. (1982) *Fruticultura tropical: 3. Mamão*. São Paulo: Agronômica Ceres, 276p.
- Nakasone, H. Y., Lamoureux, C. (1982) Transitional forms of hermaphroditic papaya flowers leading to complete maleness. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 107 (4):589-592.
- Pimentel-Gomes, F. (2000) *Curso de estatística experimental*. 14.ed. Piracicaba: Nobel, 477p.
- Rolim, S. G., Couto, H. T. Z., Jesus, R. M. (1999) Mortalidade e recrutamento de árvores na Floresta Atlântica de Linhares (ES). *Scientia Forestalis* 55:49-69.
- Samach, A., Coupland, G. (2000) Time measurement and the control of flowering in plants. *Bioessays* 22:38-47.
- Silva, F. F., Pereira, M. G., Damasceno Junior, P. C., Pereira, T. N. S., Viana, A. P., Daher, R. F., Ramos, H. C. C. and Ferregueti, G. A. (2006a) Evaluation of the sexual expression in a segregating RC<sub>1</sub> papaya population. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 7: 1-8.
- 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. (2006b) Estimação de parâmetros genéticos relacionados a características morfoagronômicas e de qualidade de frutos em mamoeiro. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 6: (Prelo).

Silva, F. F., Pereira, M. G., Ramos, H. C. C., Damasceno Júnior, P. C., Pereira, T. N. Ide, C. D. (2006c) Correlações genóticas de caracteres morfoagronômicos em mamoeiro e suas implicações para o melhoramento de genético. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 6: (Prelo).

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. (2006d) Seleção e estimação do ganho genético em gerações segregantes de mamoeiro (*Carica papaya* L.). *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 6: (Prelo).

Storey, W. B. (1953) Genetics of the papaya. *J. Hered.*, Washington 44:70-78.

Vencovsky, R. Herança quantitativa. In: Paterniani, E. (coord.) *Melhoramento e produção de milho no Brasil*. Piracicaba, ESALQ/USP, 1978. p.122-201.

### **3.2. MARCADORES MICROSSATÉLITES COMO FERRAMENTA AUXILIAR NA SELEÇÃO EM GERAÇÕES S<sub>2</sub> DE MAMOEIRO**

### 3.2.1. RESUMO

O emprego dos marcadores moleculares na seleção assistida tem promovido grande impacto no melhoramento de plantas, possibilitando a identificação de genótipos superiores em populações segregantes e, sobretudo, reduzindo o tempo necessário para a liberação de novos materiais genéticos para o cultivo. A utilização de marcadores moleculares em programas de introgressão gênica via retrocruzamento é talvez a aplicação mais concreta atualmente da tecnologia dos marcadores moleculares no melhoramento, possibilitando o monitoramento da presença do gene de interesse nas gerações de retrocruzamentos e com a genotipagem molecular dos indivíduos possibilita a seleção daqueles mais semelhantes ao progenitor recorrente e com melhor conversão na região próxima ao gene introduzido. Nesse contexto, o trabalho teve como objetivo utilizar marcadores microssatélites para monitorar o nível de homozigose e a proporção do genoma do genótipo recorrente ('Cariflora') dentro da população segregante 52 RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, além de identificar indivíduos segregantes favoráveis para avaliação como novas variedades ou genitores de híbridos de mamão. Foi avaliado um total de 43 genótipos hermafroditas da geração S<sub>2</sub>, sendo que 17, 14 e 12 genótipos representaram a família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34, 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-29II e 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-08, respectivamente. Foram usados 45 clones contendo seqüências de DNA que flanqueiam a região microssatélite, no qual foram utilizados para desenhar os pares de primers. Das repetições encontradas foram observadas 62% do tipo perfeita, 22% compostas e 16% imperfeitas. Um total de 77 pares de primers foi empregado na realização da triagem utilizando o DNA dos

parentais extraído em bulk, desses apenas 17 revelaram polimorfismo, sendo então aplicados na população segregante. Considerando a triagem utilizando material genético dos dois parentais, um total de 41 alelos foi encontrado em 17 locos analisados, porém, entre a população segregante foram encontrados um ou dois alelos por loco. O nível de homozigose observado nos 43 genótipos variou de 75% a 94%. Ao considerar os três tratamentos separadamente, verifica-se que o maior nível de homozigose foi encontrado na família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-08, seguida da 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34 e 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-29II. Quanto à proporção genômica dos progenitores, verifica-se que a família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-08 é mais próxima geneticamente do genitor doador, ao passo que a família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34 reúne maior quantidade de atributos genéticos comuns ao genitor recorrente. Por outro lado, a família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-29II apresentou níveis intermediários dos dois genomas. Por meio da matriz de dissimilaridade, gerada pelo método hierárquico UPGMA, pôde-se observar uma distância média entre os 43 genótipos avaliados de 0,68, com números que variaram de 0,50 a 0,837, enquanto que a distância observada entre os genótipos parentais foi de 0,86. A partir dos resultados deste trabalho é possível inferir que os marcadores microssatélites mostraram-se eficientes em acessar o nível de homozigose da população, bem como em detalhar a proporção genômica dos genótipos segregantes.

### 3.2.2. ABSTRACT

The use of molecular markers in marked assisted selection has promoted great impact in plant improvement, making possible the identification of superior genotypes in segregant populations and, over all, reducing the time for the release of new genetic materials for cropping. The use of molecular markers in programs of genetic introgression through backcross is, perhaps, the most real application of this technology in genetic improvement, making possible monitor the presence of interest genes from backcross generations, and with the molecular genotyping of individuals its possible the selection of those similar ones to the recurrent genitor, with better conversion in the region next to the introduced gene. In this context, this study had as objective to use microsatellites markers to control homozygous levels and the proportion of recurrent genotype of genome ('Cariflora') inside the segregating population 52RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>, besides identify favorable segregating individuals for evaluation as new varieties or hybrids genitors of papaya. A total of 43 hermaphrodite genotypes were evaluated of the S2 generation, being that 17, 14 and 12 genotypes represented by 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34, 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-29II and 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-08 families, respectively. Were used 45 clones that contain DNA sequence that flanking the microsatellite region, which were used to draw the primers pairs. From found repetitions observed that 62% were perfect, 22% were composed and 16% imperfect. A total of 77 primers pairs were used in the screening using the parental DNA extracted by bulk technic. Of these, only 17 showed polymorphism, being then applied in the segregating population. Considering the screening using genetic material from two parental ones, a total of 41 alelos were found in 17

analyzed loci. However, between segregating populations were found one or two allele by locus. The homozygosity level observed in the 43 genotypes varied from 75 to 94%. Considering the three treatments separately, it was verified that the larger homozygosity level was found in 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-08, followed by 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34 and 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-29II. About the genomic proportion of progenitors was verified that the family 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-08 was the most genetically closer to the donor genitor, and the the family 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34 congregates amount of common genetic attributes to the recurrent genitor. On the other hand, the family 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-29II presented intermediate levels of the two genomes. Through dissimilarity matrix, created by UPGMA method, an average distance of 0,68 can be observed between the 43 evaluated genotypes, with numbers that varied from 0,50 to 0,837, while the distance observed between the parental genotypes was 0,86. From this results it was possible to infer that the microsatellites markers were revealed efficient in access the population homozygosity level, as well as in detailing the genomic proportion of the segregant genotypes.

### 3.2.3. INTRODUÇÃO

Embora o Brasil seja o maior produtor mundial de mamão, toda a área de produção comercial é implantada quase exclusivamente com três cultivares integrantes de dois grupos – Solo e Formosa-, discriminados em função dos tipos de frutos (Oliveira *et al.*, 1994). De acordo com Foltran *et al.* (1993), apesar da facilidade de cultivo e do grande consumo do mamão, a cultura apresenta problemas relacionados com pragas, doenças, características agronômicas e, principalmente, a reduzida disponibilidade de material melhorado para exploração comercial. Com a perspectiva de aumento de produtividade, o melhoramento genético do mamoeiro requer melhor aproveitamento dos métodos clássicos, por meio de seleção de variedades agronomicamente superiores e desenvolvimento de linhagens e/ou híbridos com características comerciais favoráveis, que atendam tanto as exigências do mercado interno quanto externo (Dantas *et al.*, 2002). Dessa forma, a cultura do mamoeiro passará a sustentar-se em uma base genética mais ampla, aumentando o número de cultivares e/ou híbridos disponível para o plantio nas principais regiões produtoras.

Conforme Carneiro (2002), para assegurar o desenvolvimento de materiais genéticos verdadeiramente superiores e para que a oferta desses genótipos siga o mesmo ritmo do crescimento populacional, novas ferramentas devem ser associadas ao melhoramento genético convencional. Nesse contexto, umas das ferramentas mais recentes e mais poderosas são os marcadores de DNA, pois pode auxiliar acelerando métodos convencionais de melhoramento,

com a seleção assistida pelos marcadores (SAM), mapeamento e “Fingerprinting de DNA”.

Dentre as inúmeras aplicações conhecidas, o emprego da seleção assistida pelos marcadores moleculares tem promovido grande impacto no melhoramento de plantas, possibilitando a identificação de genótipos superiores em populações segregantes e, sobretudo, reduzindo o tempo necessário para a liberação de novos materiais genéticos para o cultivo. De acordo com Ferreira e Grattapaglia (1998), a utilização de marcadores moleculares em programas de introgressão gênica via retrocruzamento é talvez a aplicação mais concreta atualmente da tecnologia dos marcadores moleculares no melhoramento. Para o monitoramento da presença do gene de interesse nas gerações de retrocruzamentos utilizam-se marcadores moleculares fortemente ligados aos genes que se deseja introgridir. Ao mesmo tempo, a genotipagem molecular dos indivíduos possibilita a seleção daqueles mais semelhantes ao genótipo do progenitor recorrente e com melhor conversão na região próxima ao gene introduzido, reduzindo assim o número de gerações de retrocruzamentos necessárias para o desenvolvimento de variedades melhoradas.

Entre as classes de marcadores baseados em DNA atualmente disponíveis, os microssatélites SSRs, ou simplesmente seqüência simples repetida, vem sendo cada vez mais utilizados e tem se destacado entre os demais marcadores moleculares. Eles são loco específico, codominante, multialélicos e são altamente polimórficos, podendo ser usados para caracterizar indivíduos, diversidade genética, seleção assistida, caracterização de germoplasma, DNA fingerprint, entre outros (Ferreira e Grattapaglia, 1998). Os alelos de microssatélites é resultado de uma mudança no número de repetições dos di, tri ou tetra nucleotídeos, enquanto os alelos nulos é consequência do polimorfismo no sítio de ligação do primer (Stachel *et al.*, 2000). Vários mecanismos têm sido sugeridos para explicar a origem dos diferentes alelos detectados por este marcador, incluindo erros durante a recombinação, crossing-over desigual ou através de erro da DNA polimerase durante a replicação ou reparo (Oliveira *et al.*, 2006).

Nesse contexto, objetivou-se com este trabalho utilizar marcadores microssatélites para monitorar o nível de homozigose e a proporção do genoma do genótipo recorrente ('Cariflora') dentro da população segregante 52 RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>,

além de identificar indivíduos segregantes favoráveis para avaliação como novas variedades ou genitores de híbridos de mamão.

### 3.2.4. MATERIAL E MÉTODOS

As análises moleculares utilizando o marcador microssatélite ou SSR foram conduzidas no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LMGV), setor de Genética Aplicada, no Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

#### 3.2.4.1. Material genético

Foi avaliado um total de 43 genótipos hermafroditas da geração  $S_2$ , sendo que 17, 14 e 12 genótipos representaram a família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34, 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-29II e 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-08, respectivamente. Todas as três famílias utilizadas neste trabalho são provenientes da planta 52 do primeiro retrocruzamento (RC<sub>1</sub>) entre uma planta F<sub>1</sub> e o genótipo recorrente 'Cariflora'. Além desses materiais genéticos citados acima, foi coletado em "bulk" material vegetal de oito plantas do genótipo 'Cariflora' e de quatro plantas da variedade 'SS 783', com o objetivo de tentar amostrar todas as formas alélicas presentes em cada um dos dois grupos genéticos para cada loco analisado. Esses materiais foram obtidos do experimento implantado na empresa Caliman Agrícola S.A., localizada no município de Linhares-ES, e encaminhados para o Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal da UENF, onde foram realizados todos os procedimentos de extração de DNA e análise molecular.

### **3.2.4.2. Isolamento de DNA genômico**

Após maceração na presença de nitrogênio líquido de folhas jovens de cada material genético descrito no tópico acima, foi efetuada a extração de DNA genômico, seguindo o método CTAB (Doyle e Doyle, 1990), com algumas modificações. Após a extração, foram estimadas a concentração do DNA e a integridade e pureza molecular através da eletroforese em gel de agarose a 0,8% corado com brometo de etídio, utilizando como DNA padrão o HIGH DNA MASS LADDER (INVITROGEN, USA). Em seguida, o DNA foi diluído para a concentração de trabalho de 10 ng/ $\mu$ L e armazenado a -20°C.

### **3.2.4.3. Marcadores Microssatélites**

#### **3.2.4.3.1. Seleção de iniciadores SSR**

Em uma primeira etapa foi realizada uma busca na literatura e no banco de dados por seqüências de *primers* microssatélites desenhados especificamente para a espécie *Carica papaya* L.. Dessa busca foram encontrados 32 pares de *primers*, publicados por Santos *et al.* (2003), e 45 seqüências de clones (Pérez *et al.*, 2006a) publicamente disponíveis no GenBank. Sendo assim, após o desenho dos *primers* e a realização da otimização das condições de reação, 17 pares de *primers* foram selecionados com base no polimorfismo encontrado entre os genótipos parentais (Tabela 1).

**Tabela 1.** Lista de *primers* microssatélites utilizados na análise molecular dos 47 genótipos derivados de uma população segregante e o número de alelos encontrados por cada *primer*

Nome do <i>primer</i>	Repetição	Seqüência do <i>primer</i> (5' → 3')	Ta (°C)	Nº de alelos encontrados*
mCpCIR01	CT <sub>(18)</sub> GA <sub>(3)</sub>	F: ATCGTCTCCTTTTTCTGGTT R: TCTGCCTCCCAATACACTAAT	57	2
mCpCIR02	TC <sub>(24)</sub>	F: AGCCACAACCTACGGGAAAT R: AGTAACGGAGGAAAATGAGT	57	3
mCpCIR05	TC <sub>(18)</sub>	F: ATCGTCTCCTTTTTCTGGTT R: TTCTGCCTCCCAATACACTA	57	2
mCpCIR08	CT <sub>(20)</sub> AC <sub>(5)</sub>	F: ACCCACCAGCAATCTCCAT R: AGCAAACCACTCACTCTCATA	59	3
mCpCIR09	CT <sub>(9)</sub>	F: TGACGATAAAACCCCTAACGA R: TAAGAAACAGCGAAACCCCTA	59	2
mCpCIR16	CT <sub>(9)</sub>	F: TACTACTGCCTAACACCCATT R: AACCAACCATAACTGCCTTT	59	3
mCpCIR17	GA <sub>(14)</sub>	F: ACAAACAAGTCCCCAAATCT R: TACTACTGCCTAACACCCATT	59	2
mCpCIR23	TC <sub>(8)</sub>	F: ACCATTACTTCCCCCCTATTT R: ACTCACTTTCCTTTCTTTCCA	56	2
mCpCIR28	TC <sub>(8)</sub>	F: ATCAAGGAAGTGCAAATTT R: ATGAGCCAATGAGAAGAGGGA	56	2
mCpCIR35	TC <sub>(20)</sub>	F: ACATACAAAACACTTACCACCA R: TCAGACATACTGCATCTCAA	56	3
mCpCIR39	CT <sub>(10)</sub>	F: ATAGCAAACAGAAAAACCCA R: ATAGAAAGAGAAAGCGA	59	2
mCpCIR40	TC <sub>(13)</sub> TC <sub>(21)</sub>	F: TCGGTTCTCAGGTTTCTTCTAA R: ACAATCACAGGCACACAT	57	2
mCpCIR45	GA <sub>(14)</sub>	F: AAAAGGACGAAAAGGAGACT R: TTTGAACTACCTACACGAACT	56	3

Tabela 1, Cont.

<b>Nome do primer</b>	<b>Repetição</b>	<b>Seqüência do primer (5' → 3')</b>	<b>Ta (°C)</b>	<b>Nº de alelos encontrados</b>
S285	GAT <sub>(3)</sub>	<i>F: AATGTGTGAGAATAGGTT</i> <i>R: AATCTATCCTCCTCATGTA</i>	59	3
S414	AC <sub>(7)</sub>	<i>F: ATTCTTAGCCAGATGATGT</i> <i>R: ATTGCATGTACACATACCGT</i>	59	2
S422	GAT <sub>(8)</sub>	<i>F: ACGCATCACACGTATATCTA</i> <i>R: ATAACCTCGCTACATCCTCT</i>	56	3
S552	GAT <sub>(4)</sub>	<i>F: AACAAAGTGGAACCTCCTATA</i> <i>R: CAATGGAACCTTCTGCTACTA</i>	52	2

\* O número de alelos encontrados foi baseado na triagem de *primers* utilizando o DNA genômico dos parentais 'Cariflora' e 'SS 783'

Ta (°C): Temperatura de anelamento

F: *Forward*

R: *Revers*

### 3.2.4.3.2. Desenho e síntese de pares de iniciadores

Os 45 clones contendo seqüências de DNA que flanqueiam a região microssatélite foram utilizados para desenhar os pares de *primers* (Forward e Reverse), utilizando-se os programas *Genamics Expression* versão 1.0.0.0 e *Oligo* versão 6.68. Para obter uma maior especificidade dos *primers* na amplificação foram estabelecidos alguns critérios no desenho dos mesmos, tais como: o tamanho mínimo do *primer* (de 14 pares de base),  $T_m$ 's ("melting temperatures") entre 35 e 45 graus. Além desses critérios já citados, foram evitadas seqüências que apresentavam os nucleotídeos G e C em suas extremidades (principalmente na 3'OH) devido a força de sua ligação com as bases correspondentes, podendo gerar amplificações inespecíficas. Além disso, foram excluídos os pares de *primers* que apresentavam complementaridade superior a duas bases (entre si ou com seu par) e porcentagem de C e G menor do que 40%.

### 3.2.4.3.3. Otimização de PCR e triagem dos iniciadores SSR

O DNA dos parentais ('Cariflora' e 'SS 783') foi utilizado inicialmente para a realização da otimização de reação e triagem de todos os 77 pares de *primers* sintetizados. As reações de amplificação dos microssatélites foram realizadas em um volume final de 20 $\mu$ L, contendo 10 ng de DNA, 10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 $\mu$ M de cada desoxirribonucleotídeo (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 2 pM de cada primer (F e R) e 1 U de Taq DNA polimerase. As amplificações para otimização da temperatura de anelamento foram realizadas no termociclador Gradiente da marca EPPENDORF, de acordo com o seguinte programa: 94°C por 4 min + 32 ciclos de 94°C a 30 seg, 53°C a 1 min, 72°C por 1 min + 72°C por 7 min e redução a 4°C, com gradiente de 10°C. Já para realização das demais reações o programa utilizado para a amplificação foi o mesmo, porém, sem o gradiente de 10°C. Os produtos de amplificação foram separados em gel de poliacrilamida 8%, sem agente desnaturante, e corado com brometo de etídio.

#### **3.2.4.3.4. Reação da polimerase em cadeia (PCR)**

As reações de amplificação foram feitas conforme descrito no tópico anterior, com algumas alterações em relação a concentração de  $MgCl_2$  e a quantidade de DNA ótima para a amplificação de alguns primers, conforme descrito na Tabela 2. As amplificações para corrida em gel de agarose Metaphor a 3% foram realizadas no termociclador Gradiente da marca EPPENDORF, de acordo com o seguinte programa: 94°C por 4 min + 32 ciclos de 94°C a 30 seg, 50°C a 1 min, 72°C por 1 min + 72°C por 7 min e redução a 4°C. Para os *primers* cuja corrida foi realizada em gel de poliacrilamida 8% (Maniatis, 1989), o programa teve uma modificação com o aumento do tempo de extensão final da fita passando de 7 para 30 minutos, com o objetivo de equalizar o tamanho dos fragmentos, visto que o gel utilizado é de alto poder de discriminação, podendo diferenciar fragmentos com diferença de poucos pares de base. Os produtos de amplificação separados por eletroforese em gel de agarose 3% correram a 100 V por 3h, ao passo que os que foram separados em gel de poliacrilamida 8% (sem agente desnaturante) correram a 100 V por 5h a 6h, utilizando com padrão de peso molecular o DNA Ladder de 100 pb. Ambos os géis foram corados com brometo de etídio (0,5µg/ml), visualizados sob luz ultravioleta e as imagens capturadas pelo sistema Eagle Eye de foto-documentação.

#### **3.2.4.4. Análise estatística**

##### **3.2.4.4.1. Variabilidade genética**

Os dados obtidos a partir da amplificação dos primers microssatélites foram convertidos em uma matriz numérica obedecendo a seguinte codificação: 0 (zero) para a ausência do alelo, 1 para a presença de uma cópia do alelo e 2 para a presença de duas cópias do alelo, conforme o programa GENES (Cruz, 2001). Originada a matriz numérica com o conteúdo informativo do polimorfismo por loco, calculou-se a distância genética entre os genótipos estudados, com o auxílio do programa GENES versão Windows 2004 (Cruz, 2001).

A matriz de distância genética ou matriz de dissimilaridade foi utilizada para realizar a análise de agrupamento dos genótipos via dendograma, por meio

do método hierárquico UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). Para a formação dos grupos este método utiliza a distância média de todos os pares de genótipos constituinte de cada grupo. Nessa etapa utilizou-se o programa computacional STATISTICA versão windows 5.0 (Statsoft, 1999).

#### **3.2.4.4.2. Nível de homozigose dos genótipos**

Para a estimativa do nível de homozigose dos genótipos avaliados, procedeu-se o cálculo da relação entre o número de locos em homozigose e o número total de locos analisados por genótipo, com o auxílio do programa computacional MICROSOFT EXCEL (2003).

### 3.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.2.5.1. Desenho de iniciadores e detecção de polimorfismo

Na Tabela 2 encontra-se a lista dos *primers* desenhados e as características dos microssatélites otimizados e testados em duas variedades de *Carica papaya* L. ('Cariflora' e 'SS 783'). Das 45 seqüências de clones obtidos por Pérez *et al.* (2006a), todas possibilitaram o desenho de *primers* seguindo os critérios descritos no tópico 3.2.4.3.1.2. Os clones foram obtidos a partir de biblioteca enriquecida utilizando-se as sondas (GA)<sub>n</sub> e (GT)<sub>n</sub> e, desses, apenas regiões com repetições de dinucleotídeos foram encontradas (CT, GA, TC, AG, AC, TA, CA), com números que variaram de 3 a 22. Das repetições de dinucleotídeos citadas acima, a mais abundante foi a composta por TA (45%), ao passo que a menor freqüência foi observada para a repetição AC (2%). Em contraposição a um prévio levantamento conduzido para verificar a abundância de SSRs em genomas de plantas (Wang *et al.*, 1994), onde constatou-se que a repetição do tipo AT é a mais predominante, no trabalho realizado por Pérez *et al.*, (2006a) nenhum clone com este tipo de repetição foi encontrado.

Apesar de os clones utilizados neste trabalho apresentarem apenas seqüências de dinucleotídeos, outros trabalhos envolvendo análise de microssatélites nesta cultura revelam a existência de regiões microssatélites formadas a partir de repetições de tri e tetra nucleotídeos. Sharon *et al.* (1992), aplicou DNA fingerprints para identificação e análise genética entre e dentro de espécies de *Carica*, utilizando a técnica de Southern Blot, com sondas de

seqüências microssatélites (di, tri e tetra nucleotídeos) e minissatélites. Os resultados obtidos comprovaram que a técnica constitui-se numa ferramenta útil na identificação de espécies e de cultivares, podendo ser aplicada também na identificação de híbridos específicos e interespecíficos. Parasnis *et al.* (1999), em seus estudos para diferenciação sexual em mamão, observaram a ausência de seqüências microssatélites (GAA)<sub>6</sub>, (TG)<sub>10</sub>, (CAC)<sub>5</sub>, (GGAT)<sub>4</sub> e (GACA)<sub>4</sub> no genoma de seis cultivares de mamão por Southern Blot. Entretanto, ao utilizarem a sonda (GATA)<sub>4</sub>, os autores encontraram uma banda específica para plantas do sexo masculino e sugeriram que este fragmento amplificado indica a divergência entre os cromossomos X e Y de mamão. Ao desenvolver bibliotecas enriquecidas com seqüências microssatélites para esta mesma espécie, Santos *et al.* (2003) utilizaram sondas de di, tri e tetra nucleotídeos ((TC)<sub>13</sub>, (GATA)<sub>4</sub>, (CAC)<sub>10</sub>, (TCA)<sub>10</sub> e (TGAG)<sub>8</sub>), no entanto, apenas na biblioteca enriquecida com a sonda (TCA)<sub>10</sub> foi possível proceder o desenho de *primers*.

Dentre as 45 seqüências microssatélites encontradas por Pérez *et al.* (2006) (Tabela 2) 62% foram do tipo perfeita, 16% imperfeitas e 22% compostas. Dos pares de *primers* desenhados, 15 mostraram-se polimórficos, 25 apresentaram um padrão de banda única e cinco não apresentaram produto de amplificação diante das condições de reação aplicadas. Ao estudar o esforço para isolar microssatélites em plantas, Squirrell *et al.* (2003) constataram que entre obter seqüências de clones contendo SSR e desenvolver um conjunto de *primers* polimórficos, a proporção média de insucesso é de 83%. Segundo os autores, para se obter 10 pares de *primers* úteis é necessário que uma média de 104 clones sejam seqüenciados, 65 SSRs sejam identificados e 31 *primers* sejam desenhados.

Diante do exposto e dos resultados obtidos no presente trabalho, observa-se que a quantidade de *primers* polimórficos obtidos a partir das 45 seqüências de clones disponíveis no GenBank foi satisfatória, visto que superou ligeiramente a proporção esperada. De acordo com Squirrell *et al.* (2003), mesmo depois de grandes esforços para o desenho adequado de *primers*, é comum que alguns deles falhem na amplificação, sendo necessário algumas otimizações nas condições de reação para que estes possam ter sucesso na amplificação. Contudo, este procedimento não pode ser considerado uma solução para todos os casos.

**Tabela 2.** Lista dos 45 pares de primer desenvolvidos para *Carica papaya* L. e respectivas seqüências, desenhados a partir de clones encontrados no GenBank, seguido do tamanho do fragmento amplificado, polimorfismo e condição de PCR

Nome do Primer	Repetição	Seqüência do primer (5' → 3')	Tamanho em pb	Polimórfico*	Otimização de PCR		
					Ta °C)	DNA**	MgCl <sub>2</sub> ***
mCpCIR01	CT <sub>(18)</sub> GA <sub>(3)</sub>	F: ATCGTCTCCTTTTTCTGGTT R: TCTGCCTCCCAATACACTAAT	164	Sim	57	20,0	4,0
mCpCIR02	TC <sub>(24)</sub>	F: AGCCACAACCTACGGGAAAT R: AGTAACGGAGGAAAATGAGT	157	Sim	57	10,0	2,0
mCpCIR03	TC <sub>(14)</sub>	F: TACGCACTTACCTGATTTCTGT R: ACTCCTCCTCACTTCTCCCT	378	Não	63	10,0	2,0
mCpCIR04	TC <sub>(10)</sub>	F: TTCCTTTCCCTCCTCTGTA R: TCCTCCCTGCCACTCTTA	198	Não	56	ND	ND
mCpCIR05	TC <sub>(18)</sub>	F: ATCGTCTCCTTTTTCTGGTT R: TTCTGCCTCCCAATACACTA	167	Sim	57	20,0	2,0
mCpCIR06	TG <sub>(6)</sub> GA <sub>(17)</sub>	F: TAGAGACCGCATAAAAGAGA R: TTCACGATTCCCGAGACGAT	454	Sim	59	10,0	2,0
mCpCIR07	TC <sub>(14)</sub>	F: TAAATACGGCTTCCTCTGGT R: ACCGAAAACCCTAAACCTA	404	Não	57	10,0	2,0
mCpCIR08	CT <sub>(20)</sub> AC <sub>(5)</sub>	F: ACCCACCAGCAATCTCCAT R: AGCAAACCACTCACTCTCATA	156	Sim	59	10,0	2,0
mCpCIR09	CT <sub>(9)</sub>	F: TGACGATAAAACCCTAACGA R: TAAGAAACAGCGAAACCCTA	310	Sim	59	10,0	2,0
mCpCIR10	TA <sub>(4)</sub> AG <sub>(18)</sub>	F: AGAAGAGCAGCAGAAAACAA R: TGACGGGATAATGAGGGA	338	Não	57	10,0	2,0
mCpCIR11	GA <sub>(5)</sub> AG <sub>(16)</sub>	F: TTGAGAGAGAGACGGGGA R: AGAGAGAAAAACGGGGA	154	Não	53	10,0	2,0
mCpCIR12	TC <sub>(24)</sub>	F: ATGTCAGGAGAAAAAGATGT R: TTGTGGAAAAGCCCTCTCAT	312	Não	56	10,0	2,0
mCpCIR13	GA <sub>(8)</sub>	F: AGCAGAAACGGATACGAACT R: TTATTTCTGATGCTCCACA	245	Não	56	20,0	2,0

Tabela 2, Cont.

Nome do <i>Primer</i>	Repetição	Seqüência do <i>primer</i> (5' → 3')	Tamanho em pb	Polimórfico	Otimização de PCR		
					Ta °C)	DNA	MgCl <sub>2</sub>
mCpCIR14	TC <sub>(15)</sub>	F: AGATAGGGAAAGAAAGGGA R: AAAAGGGGCAGAGAGAAT	217	Não	56	ND	ND
mCpCIR15	CT <sub>(9)</sub> TC <sub>(11)</sub>	F: ATGGTGGCAATCGGGAAAAA R: TGTGGTATGAGGGAATGGAA	491	Não	59	10,0	2,0
mCpCIR16	CT <sub>(9)</sub>	F: TACTACTGCCTAACACCCATT R: AACCAACCATAACTGCCTTT	287	Sim	59	10,0	2,0
mCpCIR17	GA <sub>(14)</sub>	F: ACAAACAAGTCCCCAAATCT R: TACTACTGCCTAACACCCATT	346	Sim	59	10,0	2,0
mCpCIR18	CT <sub>(9)</sub> CT <sub>(9)</sub>	F: ATGGTGGCAATCGGGAAAAA R: TGTGGTATGAGGGAATGGAA	491	Não	63	10,0	2,0
mCpCIR19	TC <sub>(9)</sub>	F: AAGGATTGTTTAGTGGTGGGA R: TGAAACGAAAATACAGAGCA	184	Não	59	10,0	2,0
mCpCIR20	TC <sub>(10)</sub>	F: TCTCACTCTCTCTCTACCTCTCA R: TCTCGCCCTTTCCTTACTA	95	Não	59	10,0	2,0
mCpCIR21	GA <sub>(9)</sub>	F: TAAACCAACCATAACTGCCT R: TACTACTGCCTAACACCCATT	287	Não	57	10,0	2,0
mCpCIR22	GA <sub>(12)</sub>	F: TGACAAGACAAGAGGCACAT R: AAGAAGGGAAAAGGTAT	281	Não	52	20,0	3,0
mCpCIR23	TC <sub>(8)</sub>	F: ACCATTACTTCCCCCTATTT R: ACTCACTTTCCTTTCTTTCCA	475	Sim	56	10,0	2,0
mCpCIR24	TC <sub>(12)</sub>	F: AGGAAGAAGGGTAAAATAGGGA R: TGGATTGGGAAAGGAAAACA	290	Não	52	10,0	4,0
mCpCIR25	GA <sub>(9)</sub> AG <sub>(6)</sub>	F: TCTGCAAAATGAAAAGGTGA R: AATAAAACAACGGGAGTGCT	186	Não	59	10,0	2,0
mCpCIR26	AG <sub>(9)</sub>	F: CAACATCAAAAGCGAAACCA R: ATCCAGGTGCTTCTTTTGCTTA	213	Não	56	20,0	2,0

Tabela 2, Cont.

Nome do <i>Primer</i>	Repetição	Seqüência do <i>primer</i> (5' → 3')	Tamanho em pb	Polimórfico	Otimização de PCR		
					Ta °C)	DNA	MgCl <sub>2</sub>
mCpCIR27	TC <sub>(3)</sub> GA <sub>(8)</sub> AG <sub>(4)</sub>	F: TAAGGATGTGGGAAGGTGA R: TTATTGACACGAGACAGGTT	362	Sim	56	10,0	3,0
mCpCIR28	TC <sub>(8)</sub>	F: ATCAAGGAAGTGCAAATTT R: ATGAGCCAATGAGAAGAGGGA	313	Sim	56	10,0	2,0
mCpCIR29	TC <sub>(9)</sub>	F: TTTTCCACCGCTTGCTCTCT R: ATCTGACCTGTAATCCTTCT	261	Não	ND	ND	ND
mCpCIR30	CT <sub>(7)</sub>	F: TCTGGTTTCCTATCTTTCTCT R: TCTCTCTTGATCTCCCTCTCA	248	Não	56	20,0	2,0
mCpCIR31	GA <sub>(12)</sub>	F: ACAAGACAAGAGGCACAT R: ATGATTGAGCGGGTGA	259	Não	59	10,0	2,0
mCpCIR32	CT <sub>(9)</sub>	F: AACAGAGCACGGAAAGAAA R: ACCGTTTGAAGCGTCCA	434	Não	59	10,0	2,0
mCpCIR33	CT <sub>(9)</sub>	F: AAAGTGAATGAGACCAGTTA R: AGGTTTTTGTAAAGTGAAGT	121	Não	59	10,0	2,0
mCpCIR34	TC <sub>(22)</sub>	F: TGAGGGAAAGGGAAGTAA R: AAGCATCTCATCAACAGTCT	225	Não	56	10,0	2,0
mCpCIR35	TC <sub>(20)</sub>	F: ACATACAAAACACTTACCACCA R: TCAGACATACTGCATCTCAA	231	Sim	56	10,0	2,0
mCpCIR36	TC <sub>(12)</sub>	F: AAGAAGGGTAAAATAGGGA R: TGGGAAAGGAAAACAGAGAA	287	Não	59	10,0	2,0
mCpCIR37	CT <sub>(9)</sub>	F: TACTACTGCCTAACACCCATT R: TAAACCAACCATAACTGCCT	288	Não	56	20,0	2,0
mCpCIR38	AG <sub>(19)</sub> TC <sub>(10)</sub> TA <sub>(7)</sub>	F: AGAGTAAAACAGAGCACCGA R: TCAAAGAGCAACCTAAGAGA F: ATAGCAAACAGAAAAACCCA R: ATAGAAAGAGAAAAGCGA	318	Não	57	10,0	3,0
mCpCIR39	CT <sub>(10)</sub>	F: ATAGCAAACAGAAAAACCCA R: ATAGAAAGAGAAAAGCGA	208	Sim	59	20,0	3,0

Tabela 2, Cont.

Nome do <i>Primer</i>	Repetição	Seqüência do <i>primer</i> (5' → 3')	Tamanho em pb	Polimórfico	Otimização de PCR		
					Ta °C)	DNA	MgCl <sub>2</sub>
mCpCIR40	TC <sub>(13)</sub> TC <sub>(21)</sub>	F: TCGGTTCTCAGGTTTCTTCTAA R: ACAATCACAGGCACACAT	255	Sim	57	20,0	4,0
mCpCIR41	GA <sub>(16)</sub>	F: TCGGAAAAAGCACAGCA R: ACCACGGGAATCTCACACTA	429	Não	59	10,0	2,0
mCpCIR42	AG <sub>(9)</sub>	F: TCAACTTCGACGATACT R: TTATCCCAACCGAATCCCTT	100	Não	ND	ND	ND
mCpCIR43	GA <sub>(4)</sub> GA <sub>(10)</sub>	F: AGTGCGTTTAGGGCTTCTT R: TTCTGCTCTTTGATGGGA	245	Não	ND	ND	ND
mCpCIR44	GA <sub>(12)</sub> GA <sub>(13)</sub>	F: TTTATGAGGGTAGTGGTGGGA R: AGAAAGACAAAAACACAGCA	202	Não	56	10,0	2,0
mCpCIR45	GA <sub>(14)</sub>	F: AAAAGGACGAAAAGGAGACT R: TTTGAACTACCTACACGAACT	174	Sim	56	10,0	2,0

\* Os dados de polimorfismo foram baseados em triagem realizada entre os genótipos parentais ('Cariflora' e 'SS 783');

\*\* Concentração do DNA em ng/μL; \*\*\* Concentração de MgCl<sub>2</sub> por reação em mM;

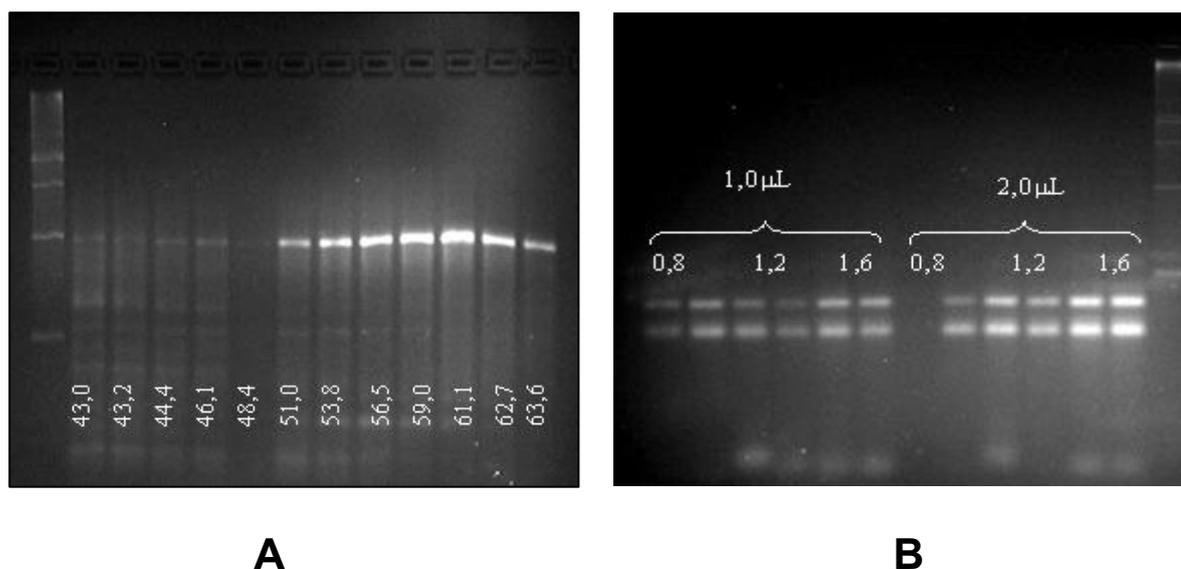
Ta (°C): Temperatura de anelamento; ND: Não definido

F: Forward; R: Reverse

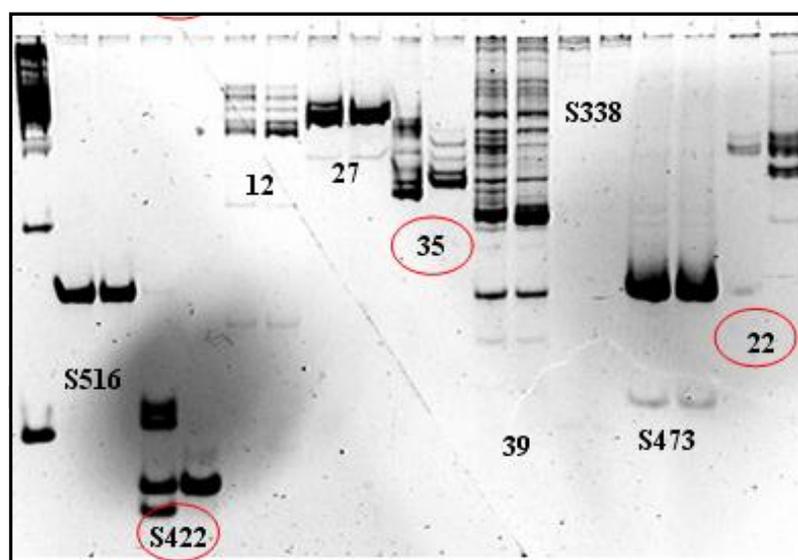
Santos *et al.* (2003), ao direcionar esforços para a construção de uma biblioteca enriquecida de seqüências microssatélites, a partir da sonda (TCA)<sub>10</sub>, encontraram 1.500 clones com diferentes tipos de repetição (di, tri e tetra nucleotídeos), com seqüências perfeitas e compostas. Desses clones foi desenhado um total de 32 pares de *primers*, dos quais 31 apresentaram um padrão de banda única, tanto em gel de agarose Metaphor 3,5% quanto em gel de poliacrilamida 8%, quando testados em plantas femininas e hermafroditas de cultivares de mamão. Os autores ressaltam que os materiais usados para testar os *primers* eram muito homogêneos, ou seja, foram originados de plantas femininas e hermafroditas das cultivares mais conhecidas do grupo Solo, sugerindo que testes com materiais mais heterogêneos podem detectar um maior polimorfismo.

De acordo com Matioli (2001), a quantidade de microssatélite parece estar diretamente relacionada ao tamanho do genoma, como mostrado por diversos estudos. Estudos realizados por Arumuganathan & Earle (1991) mostram que ambos *Carica* e *Vasconcellea* são caracterizados pelo genoma diplóide e pequeno, com tamanhos que variam de 372 a 744 Mpb e  $2n=18$ . Já com relação à diversidade genética, muitos estudos com marcadores morfológicos, isoenzimas, marcadores moleculares do tipo RAPD, RFLP e AFLP têm revelado uma limitada diversidade genética em mamão (Stiles *et al.*, 1993; Morshidi 1998; Aradhya *et al.*, 1999; Kim *et al.*, 2002; Van Droogenbroeck *et al.*, 2004).

Todos os pares de *primers* desenhados foram submetidos a um gradiente de temperatura (Figura 1), com o objetivo de encontrar uma temperatura mais apropriada para o anelamento do *primer* as seqüências únicas que flanqueiam os microssatélites. Constatou-se que a temperatura ótima dos *primers* foi em média 5% acima da temperatura recomendada pelo fabricante. Além disso, foi realizado também um teste de gradiente de MgCl<sub>2</sub> (Figura 1) para tentar melhorar o padrão de amplificação. Para a maior parte dos *primers* testados, a concentração de 2,0 mM de MgCl<sub>2</sub> foi suficiente para realizar uma boa amplificação. Contudo, para sete *primers* foi necessário utilizar uma concentração maior, sendo esta de 3,0 mM para quatro e de 4,0 mM para três dos sete *primers*. Estabelecida as condições ótimas de reação, os *primers* foram testados via PCR nos genótipos parentais Cariflora (genótipo feminino) e Sunrise Solo 783 (genótipo hermafrodita). Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese



**Figura 1.** **A** – Gel de agarose representando um teste de gradiente de temperatura realizado com o DNA do genótipo ‘SS 783’ (na primeira canaleta encontra-se o DNA Ladder 100pb); **B** – Gel de agarose representando um teste de gradiente de  $MgCl_2$  com 1  $\mu L$ . e 2  $\mu L$  de DNA do genótipo ‘SS 783’ (na última canaleta encontra-se o DNA Ladder 100pb).



**Figura 2.** Gel de poliacrilamida 8% sem agente desnaturante, representando uma triagem de *primers* microssatélites, utilizando o DNA dos genótipos parentais (‘Cariflora’ e ‘SS 783’) extraído em bulk. Os números abaixo de cada par de amplificação correspondem a identificação dos *primers* utilizados. O círculo vermelho indica os *primers* que detectaram polimorfismo.

em gel poliacrilamida 8% sem agente desnaturante, com poder de alta discriminação, gerando diferentes padrões de banda (Figura 2). A opção pelo gel de poliacrilamida foi feita devido à baixa eficiência dos géis de agarose em detectar polimorfismo de poucos pares de base.

### 3.2.5.2. Análise do nível de homozigose e da proporção do genoma parental

Os 43 materiais genéticos utilizados neste trabalho são provenientes de uma única planta (52), do primeiro retrocruzamento ( $RC_1$ ) do qual originou um dos cinco tratamentos da geração  $S_1$ . Desse tratamento ( $52RC_1S_1$ ) foram selecionadas algumas plantas, entre elas a 34, 29 e 08, que foram autofecundadas para originar a geração  $S_2$  ( $52RC_1S_2-34$ ,  $52RC_1S_2-29II$  e  $52RC_1S_2-08$ ). Desses três tratamentos foram selecionadas as plantas hermafroditas utilizadas no trabalho, tendo estas em comum a cor da polpa vermelha. Sendo assim, todos os genótipos avaliados são caracterizados por serem hermafroditas e por possuírem polpa de cor vermelha, uma característica bastante apreciada pelo mercado consumidor da fruta *in natura*, e que, portanto, pretende-se manter em genótipos selecionados para o avanço de geração com o objetivo de obter linhas com tal característica (além de outras também importantes para o programa de melhoramento do mamoeiro), e para que esta possa, conseqüentemente, ser passada para futuros cultivares e/ou híbridos superiores.

Os iniciadores microssatélites utilizados nas reações em cadeia da polimerase (PCR), suas seqüências de nucleotídeos, tamanho do fragmento amplificado, bem como o número de alelos gerados por cada *primer* estão descritos na Tabela 1. Dos 77 pares de *primers* SSR sintetizados e otimizados, apenas 17 revelaram polimorfismo entre os genótipos parentais e, portanto, apenas estes foram selecionados para as reações de amplificação da população. Um total de 41 alelos foi encontrado em 17 locos analisados entre os genótipos parentais (Cariflora e SS 783), com o mínimo de dois e o máximo de três alelos por locos, gerando uma média de 2,4 alelos/loco. No entanto, quando se considerou apenas a população  $S_2$  esses número reduziu ainda mais, ocorrendo um ou dois alelos por loco, com uma média de 1,7 alelos/loco.

Ao caracterizar acessos de *C. papaya* com *primers* SSR e analisar a transferabilidade desses *primers* para o gênero *Vasconcellea*, Pérez *et al.* (2006b)

verificaram que dos 45 pares de *primers* que apresentaram boa resolução e diferenciação alélica, 24 revelaram polimorfismo entre os acessos de *C. papaya*, com um número total de 99 alelos (dois a oito por loco), e uma média de 3,8 alelos/loco. Por outro lado, entre os acessos de *Vasconcellea*, apenas quatro *primers* revelaram polimorfismo, gerando um total de 22 alelos (três a oito por loco), com uma média de 5,5 alelos/loco.

O número médio de alelos por loco, de certa forma, nos revela o nível de polimorfismo dos materiais genéticos avaliados, ou seja, nos permite inferir o quanto os genótipos ou a população é heterogênea. Sendo assim, ao comparar os resultados do presente trabalho com os obtidos pelos autores citados anteriormente, verifica-se que a média de alelos por loco encontrado em nosso estudo mostrou-se inferior. No entanto, é importante salientar que existe diferença significativa em relação a estrutura genética dos genótipos utilizados nos dois trabalhos e, portanto, não pode ser desconsiderado. No presente estudo, apesar de a população ter sido originada de um cruzamento inicial entre dois materiais geneticamente distantes ('Cariflora' x 'Sunrise Solo 783'), deve-se considerar que quando se efetua um cruzamento se utiliza apenas um indivíduo, e sendo este diplóide, só pode ter no máximo dois alelos distintos por loco. Além disso, os genótipos avaliados encontram-se na segunda geração de autofecundação, e sendo estes derivados de uma única planta RC<sub>1</sub>, possuem uma maior uniformidade genética, devido ao grande número de locos fixados. Por outro lado, Pérez e colaboradores (2006b) utilizaram em seu trabalho acessos de *C. papaya* provenientes de cinco países diferentes (não foi citado se são materiais cultivados ou não) e sete espécies diferentes de *Vasconcellea* representadas por um total de 11 acessos (um ou no máximo dois representantes por espécie), o que proporcionou a revelação de um maior grau de polimorfismo.

Considerando que em uma população F<sub>2</sub> encontra-se todo componente de variância aditiva ( $\sigma^2A$ ) e todo o componente de variância de dominância ( $\sigma^2D$ ), ou seja, o máximo de variabilidade entre plantas de uma geração, o esperado é que entre as plantas dentro da geração S<sub>2</sub> seja encontrado  $\frac{1}{4}$  da variância aditiva ( $\sigma^2A$ ) e  $\frac{1}{4}$  da variância de dominância ( $\sigma^2D$ ), visto que a cada geração de autofecundação a variância reduz pela metade dentro de cada tratamento. Nesse contexto, espera-se encontrar na população trabalhada três vezes menos

variância do que a encontrada dentro de uma população  $F_2$ , ou seja, o equivalente a uma geração  $F_4$ .

Assim, na Tabela 3 encontra-se a relação dos materiais genéticos avaliados, bem como o número de alelos amplificados, nível de homozigose e proporção genômica dos parentais tanto com relação aos locos em homozigose quanto ao número total de alelos amplificados. O nível de homozigose observado nos 43 genótipos variou de 75% a 94%. Ao considerar os três tratamentos separadamente, verifica-se que entre os genótipos pertencentes à família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-08 (12) o nível de homozigose variou entre 82% e 94%, com uma média de 88,5%, sendo este o maior nível entre as famílias. O segundo maior nível de homozigose foi verificado entre os representantes da família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34 (17), com valores que variaram de 76% a 94% e média de 83%. Já entre os genótipos pertencentes à família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-29II (14), a proporção de homozigose variou de 75% a 94%, com uma média de 78%.

Considerando que os genótipos avaliados encontram-se na segunda geração de autofecundação, que no RC<sub>1</sub> a proporção de homozigose é de 50% e que a cada geração de autofecundação essa proporção aumenta em média 50%, o esperado é que a população estudada tenha em média 87,5% dos seus locos em homozigose, independente da estrutura genética dos genótipos parentais. No entanto, observou-se uma média de 83,2% de locos em homozigose entre todos os genótipos avaliados. Essa proporção esperada foi confirmada em estudo realizado por Silva *et al.* (2006a), na busca pelo monitoramento da variabilidade genética em progenitor de mamoeiro 'Formosa' do híbrido 'UENF /CALIMAN 01' via marcador RAPD. Os autores avaliaram três gerações, sendo uma referente à população base e duas referentes às gerações de autofecundação (S<sub>1</sub> e S<sub>2</sub>), e concluíram que, assim como esperado, a cada geração de autofecundação a proporção dos locos em heterozigose diminui pela metade e, conseqüentemente, aumenta o número de locos em homozigose, havendo também uma diminuição no número de alelos a cada geração.

Mesmo com uma média de homozigose menor do que 87,5% observou-se na população genótipos com até 94% dos locos fixados, criando uma expectativa de obter na próxima geração de autofecundação uma população com elevado grau de estabilidade e genótipos com um nível de homozigose igual ou superior a 95%, valor bastante satisfatório em um programa de melhoramento.

**Tabela 3.** Relação dos genótipos avaliados seguidos pelo número de locos amplificados, porcentagem de homozigose e proporção do genoma dos parentais baseado tanto nos locos em homozigose quanto nos alelos totais amplificados por 17 pares de *primers*

Genótipos	Nº locos Ampl.	Nível de Homoz.(%)	Proporção CF (%)		Proporção SS783 (%)	
			Homoz.**	Total *	Homoz.**	Total *
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -34-2II	17	76	46	62	38	39
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -34-5I	16	81	46	62	38	39
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -34-1II	17	76	46	62	38	38
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -34-7II	16	81	38	55	46	45
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -34-5II	16	81	38	55	46	45
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -34-9I	17	82	36	55	43	45
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -34-6I	17	76	38	57	46	43
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -34-4II	17	82	29	50	50	50
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -34-1I	16	81	46	62	38	39
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -34-3I	17	82	36	55	43	45
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -34-3II	17	88	47	58	33	42
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -34-4I	16	81	54	66	31	34
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -34-6II	16	88	43	58	36	42
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -34-7I	15	93	43	53	36	47
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -34-8I	17	94	44	56	31	44
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -34-10I	16	81	46	63	31	37
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -34-2I	17	88	47	63	27	37
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -29-11I	16	94	27	41	40	59
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -29-6I	17	88	27	42	47	58
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -29-10I	16	75	25	55	58	45
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -29-8I	17	76	23	52	62	48
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -29-9I	17	82	21	45	57	55
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -29-12I	16	81	31	50	54	50
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -29-7I	16	81	31	47	54	53
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -29-4I	16	88	43	58	36	42
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -29-2I	17	82	36	55	43	45
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -29-3I	17	82	36	60	43	44
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -29-5I	17	88	40	53	40	47
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -29-1I	17	82	43	55	43	45
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -29-14I	15	80	33	53	50	47
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -29-13I	17	94	31	44	44	56
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -08-7I	17	94	25	39	44	61
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -08-10I	17	94	25	39	50	61
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -08-6I	17	94	19	33	44	67
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -08-4I	17	94	13	28	56	72
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -08-12I	17	88	33	47	40	53
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -08-2I	17	82	21	40	64	60
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -08-3I	16	88	29	44	50	56
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -08-5I	17	88	13	32	67	68
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -08-11I	16	88	36	47	50	53
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -08-1I	17	88	40	53	40	47

Tabela 3, Cont.

Genótipos	Nº locos Ampl.	Nível de Homoz.(%)	Proporção CF (%)		Proporção SS783 (%)	
			Homoz.**	Total *	Homoz.**	Total *
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -08-8I	17	82	29	45	57	55
52RC <sub>1</sub> S <sub>2</sub> -08-9I	17	82	29	50	57	50

<sup>1</sup> Material selecionado no banco de germoplasma identificados como pertencentes ao genótipo dióico 'Cariflora'; \* Proporção do genoma do 'Cariflora' e do 'SS 783' baseado no número total de alelos; \*\* Proporção do genoma do 'Cariflora' e do 'SS 783' baseado nos locos em homozigose.

I - genótipos pertencentes a repetição 1; II - genótipos pertencentes a repetição 2

Além de avaliar o nível de homozigose da população, foi realizada também uma análise individual quanto à proporção do genoma dos parentais, considerando tanto os locos em homozigose quanto o número total de alelos. As Figuras 3, 4 e 5 ilustram bem essas proporções observadas.

Em uma população RC<sub>1</sub> proveniente de cruzamento entre duas linhagens contrastantes, é esperado que em média 75% do genoma da progênie seja derivado do genitor recorrente. No entanto, ao analisar essa proporção, considerando todos os alelos amplificados, verificou-se no presente trabalho uma proporção média de 50,1% do genoma do genitor recorrente ('Cariflora') na população, um valor muito abaixo ao esperado. Apesar de ser esperado uma média de 75% do genoma recorrente, deve-se considerar que dentro da população RC<sub>1</sub> pode existir uma variação dessa proporção de 50% a 100%, e sendo assim, pode-se inferir que a planta 52RC<sub>1</sub> que originou a população que está sendo trabalhada encontra-se entre os genótipos que possui uma menor proporção do genoma recorrente.

Silva *et al.* (2006b) salientam que existem duas razões para a não ocorrência da proporção de 75% nessa geração. A primeira delas, é que a seleção de plantas, na primeira geração de retrocruzamento foi feita com base apenas nas observações fenotípicas. A segunda razão para o ocorrido, é que antes de aplicar os marcadores de DNA para genotipagem molecular, a fim de identificar as plantas com maior proporção genômica do genitor recorrente, foi realizada uma seleção fenotípica, preservando a característica do genitor doador, a qual se deseja transferir para o recorrente. Além disso, atributos quantitativos foram também considerados privilegiando, provavelmente, o genitor doador. Dessa forma, a recuperação do genoma recorrente em ciclos de retrocruzamento

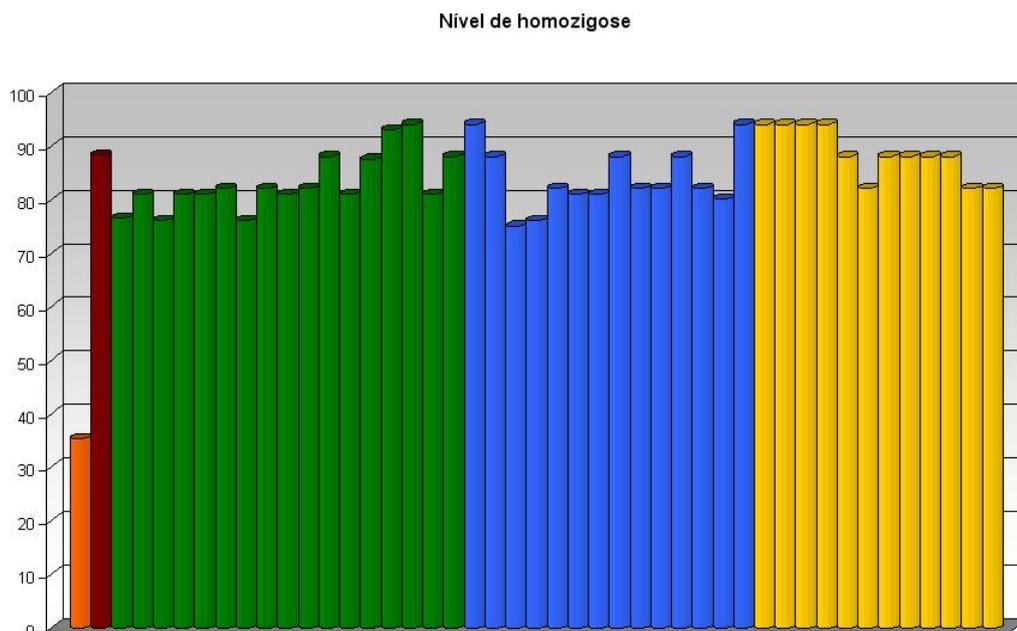


Figura 3. Representação do nível de homozigose da população avaliada e dos genótipos parentais 'Cariflora' e 'SS 783' (primeira e segunda barra, respectivamente). Em verde estão representados os genótipos da família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34; em azul a família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-29II; em amarelo a família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-08

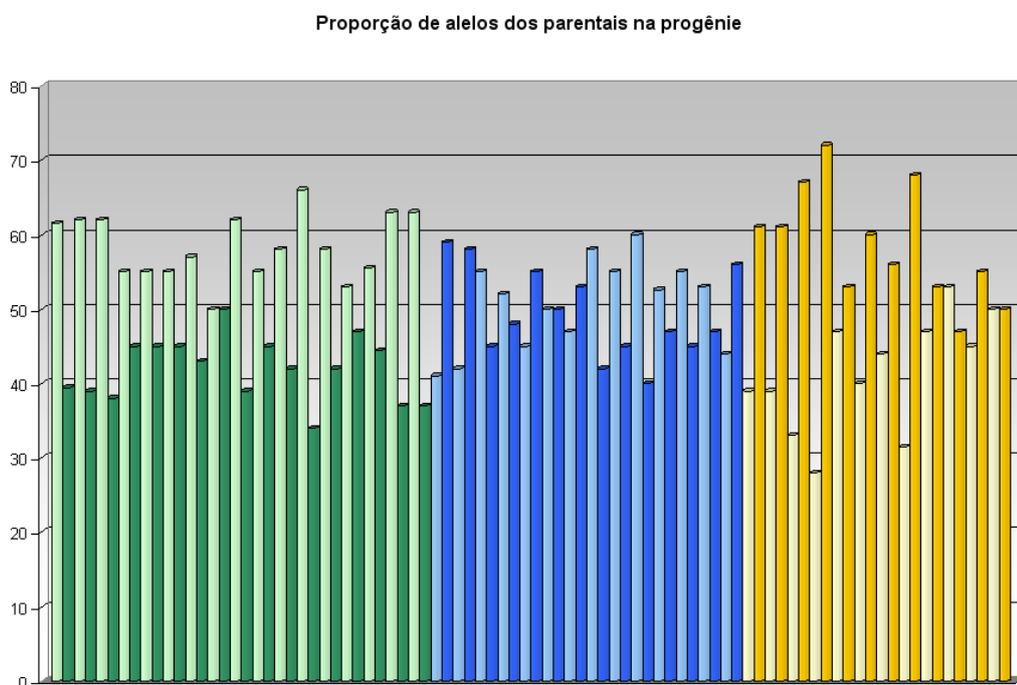


Figura 4. Proporção genômica do genitor recorrente na progênie baseado em todos os alelos amplificados. Em verde estão representados os genótipos da família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34; em azul a família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-29II; em amarelo a família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-08. As cores claras representam a proporção genômica do 'Cariflora' e as cores escuras do 'SS 783'.

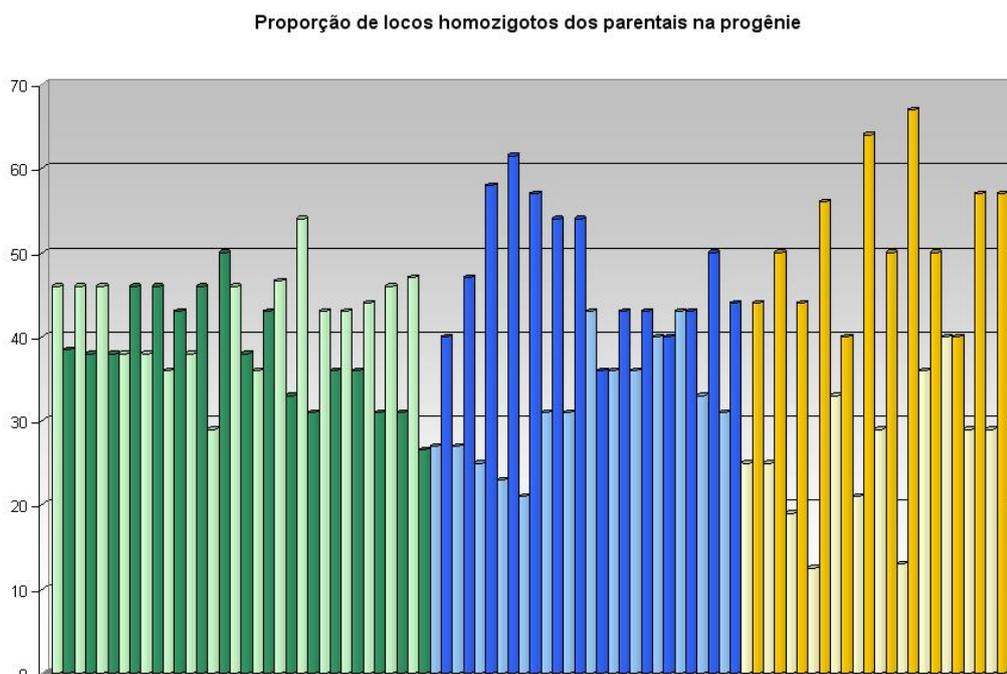


Figura 5. Proporção genômica do genitor recorrente na progênie baseado nos alelos homozigotos. Em verde estão representados os genótipos da família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34; em azul a família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-29II; em amarelo a família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-08. As cores claras representam a proporção genômica do 'Cariflora' e as cores escuras do 'SS 783'.

tende a desviar a favor do genitor doador, uma vez que a característica a ser selecionada (hermafroditismo) veio deste último e esses desvios tendem a ser mais pronunciados em características de herança quantitativa.

Silva *et al.* (2006b), trabalhando neste mesmo projeto, ao avaliar a geração RC<sub>2</sub> utilizando o marcador RAPD, com o objetivo de selecionar genótipos superiores para o avanço de geração, também não observaram a proporção esperada (75,7% em vez de 87,5%). Observando a dinâmica das populações quanto ao aumento da proporção do genoma recorrente no decorrer das gerações, nos leva a perceber que estas se comportam como se não tivesse havido ganho ou que este tenha sido pouco significativo da geração F<sub>1</sub> para o RC<sub>1</sub>, e a partir daí, as gerações apresentam proporções esperadas na geração anterior. Porém, isto não pode ser caracterizado como um problema, visto que os dois materiais genéticos utilizados no cruzamento inicial ('Cariflora' e 'SS 783') possuem características morfoagronômicas desejáveis. Além disso, o parental doador é um genótipo elite, dispensando qualquer preocupação do ponto de vista

do melhoramento quanto à proporção genômica do mesmo em genótipos derivados deste programa de melhoramento.

Considerando todos os alelos amplificados, verifica-se que entre as três famílias avaliadas, a que apresentou maior proporção do genitor recorrente ('Cariflora') foi a 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34 com uma média de 58,3%. Todos os genótipos desta família apresentaram um percentual genômico do genitor recorrente maior ou igual a 50%, com valores individuais que variaram de 50% a 66%. O segundo maior nível foi verificado na família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-29II, com uma média de 50,7% e uma proporção por genótipo que variou de 41% a 60%, sendo que a metade desses genótipos apresentou valores acima de 50%. Já na família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-08, a média foi de 41,4%, onde dos doze genótipos avaliados apenas um apresentou maior proporção do 'Cariflora', indicando que a imensa maioria dos representantes desta família está geneticamente mais próxima do genitor doador ('SS 783'). A observação de indivíduos com proporção genômica do genitor recorrente abaixo de 50% pode estar relacionado ao limitado número de locos trabalhados, resultando em uma direção oblíqua das conclusões. Essa questão pode ser contornada com a análise de um maior número de regiões genômicas, podendo assim, encontrar resultados mais próximos ao esperado.

A proporção do genitor recorrente também foi analisada tomando como base os alelos homocigotos, considerando-se somente os alelos capazes de caracterizar os genitores, sendo desconsiderados aqueles que são comuns aos dois parentais. Dessa forma, pode-se notar que a ordem hierárquica em relação a proporção média do genoma do 'Cariflora' continua a mesma encontrada para análise total dos alelos, porém, apenas a família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34 apresentou maior proporção genômica do genitor recorrente em relação ao genoma doador. Por sua vez, uma maior porcentagem do genoma doador foi observada entre genótipos das famílias 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-29II e 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-08, com diferenças entre os dois genomas (recorrente e doador) de 16% e 25,6%, respectivamente. Esses resultados reforçam a hipótese de desvio a favor da recuperação do genoma doador devido à seleção de atributos do 'SS 783' em avaliações fenotípicas realizadas em etapas anteriores.

A partir desses resultados é possível inferir que entre as famílias avaliadas, a 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-08 é mais próxima geneticamente do genitor doador, como também a que possui maior nível de homocigose. Por outro lado, apesar de ter

um nível de homozigose menor, a família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34 reúne maior quantidade de regiões genômicas comuns ao genitor recorrente, sendo esta uma família com resultados mais ajustáveis ao esperado em um programa de retrocruzamento. Considerando-se que os genótipos avaliados passaram por apenas um ciclo de retrocruzamento, a ocorrência de indivíduos com proporção genômica do 'Cariflora' acima de 60% pode ser considerada um resultado satisfatório. Partindo deste princípio, cerca de 87,5% dos genótipos que se enquadram neste perfil seriam selecionados dentro da família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34, tornando-a ainda mais atrativa para a seleção de genótipos promissores para o avanço de geração.

Por outro lado, fixando-se um ponto de corte de 87% de homozigose, pode-se observar que seriam selecionados cerca de 44,2% dos indivíduos avaliados, sendo desses 11,6%, 11,6% e 21% pertencentes às famílias 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34, 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-29II e 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-08, respectivamente. Como já discutido, nenhum problema ocorrerá do ponto de vista do melhoramento derivado desses materiais, tendo em vista o potencial agrônômico do parental doador. Além disso, para realizar uma seleção efetiva é necessário proceder a avaliações de caracteres fenotípicos para que os materiais genéticos selecionados possuam atributos morfoagronômicos desejáveis, além dos requisitos genéticos já mencionados.

Por meio da matriz de dissimilaridade, gerada pelo método hierárquico UPGMA, observou-se uma distância média entre os 43 genótipos avaliados de 0,68, com números que variaram de 0,50 a 0,837, enquanto que a distância observada entre os genótipos parentais foi de 0,86. Na Figura 6 está apresentada a análise de agrupamento, por meio de um dendograma de distância genética, baseado na análise de microssatélites, onde encontram-se os 43 genótipos avaliados e os dois parentais ('Cariflora' e 'SS 783'). Nota-se a formação de dois grandes grupos, considerando o valor de distância genética de 0,70. O primeiro grupo, no qual encontra-se o genitor recorrente (1), concentra 41,9% dos genótipos avaliados. Entre os genótipos desse grupo estão 16 dos 17 indivíduos pertencentes à família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34 e dois da família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-29II. No segundo grande grupo encontram-se 58,1% dos genótipos agrupando-se juntos ao genitor doador (2). Neste grupo encontra-se 100% dos genótipos da família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-08, 85,7% da família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-29II, além de um genótipo (3) da família 52RC<sub>1</sub>S<sub>2</sub>-34, confirmando os resultados encontrados na análise da proporção genômica dos parentais na progênie avaliada.

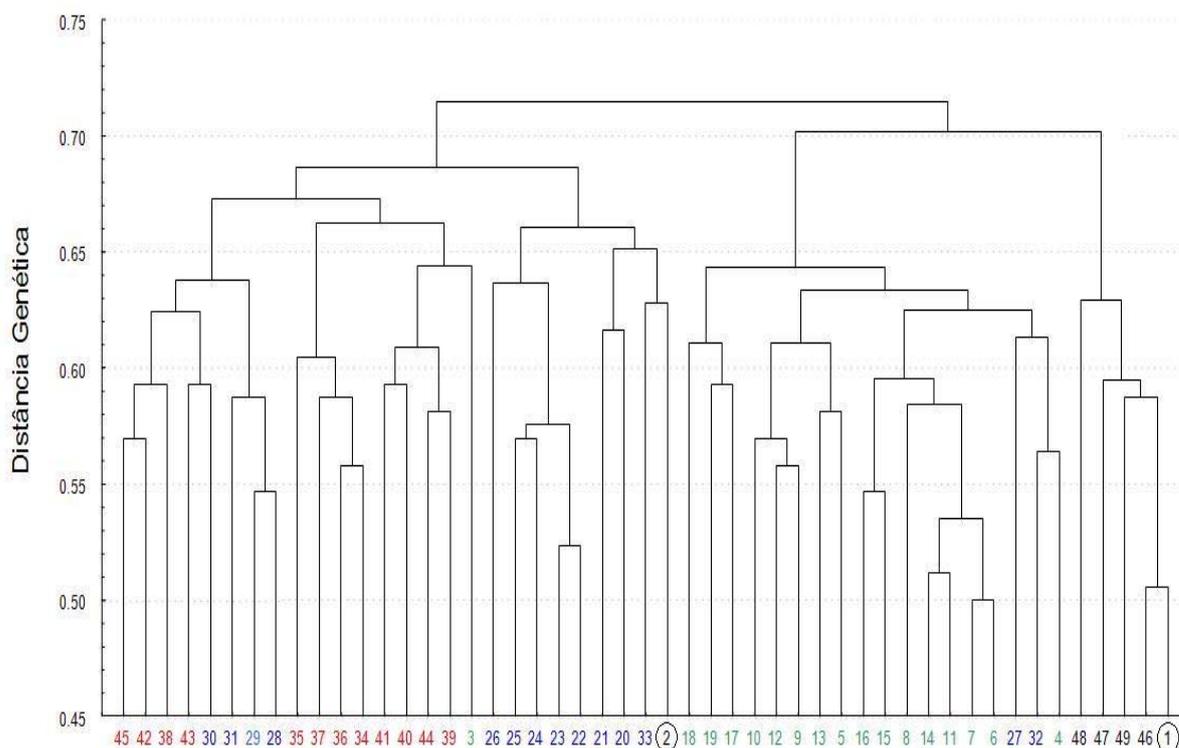


Figura 6. Dendrograma de dissimilaridade genética entre 43 genótipos pertencentes a três famílias  $S_2$ , além de quatro acessos do Banco Germoplasma UENF/Caliman e dos genótipos parentais 'Cariflora'(1) e 'SS 783'(2), obtidos pelo método UPGMA, a partir dos marcadores microssatélites. A numeração em verde equivale a família  $52RC_1S_2-34$ , em azul a  $52RC_1S_2-29II$  e em vermelho a  $52RC_1S_2-08$ .

Considerando a média da distância genética entre todos os genótipos estudados (0,68) obtidos pela matriz de dissimilaridade, observa-se que no grupo 1, onde encontra-se o genitor recorrente ('Cariflora'), houve a formação de dois subgrupos menores, sendo o primeiro composto pelos quatro genótipos do banco de germoplasma (48, 47, 49, 46) e pelo genitor recorrente (1) e o segundo por 18 genótipos (18, 19, 17, 10, 12, 9, 13, 5, 16, 15, 8, 14, 11, 7, 6, 27, 32, 4). No segundo grupo também houve uma divisão em dois subgrupos. O primeiro deles composto pelo genitor doador ('SS 783'), além de oito genótipos (26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 33), sendo sete desses representantes da família  $52RC_1S_2-29II$ . Já o segundo subgrupo, composto por 17 genótipos (45, 42, 38, 43, 30, 31, 29, 28, 35, 37, 36, 34, 41, 40, 44, 39, 3), teve como maiores representantes os genótipos provenientes da família  $52RC_1S_2-08$ .

Os genótipos provenientes do banco germoplasma UENF/Caliman foram incluídos no presente trabalho devido à dúvida sobre a identificação de um genótipo hermafrodita que se encontrava entre os acessos pertencentes ao genótipo dióico Cariflora no qual até então só se conhecia materiais genéticos do sexo masculino e feminino. Sendo assim, foram submetidos à análise molecular utilizando o marcador microssatélite, dois genótipos do sexo feminino (46 e 49), um masculino (48) e o genótipo hermafrodita sob investigação (47), todos representantes do 'Cariflora'. Com a análise do dendograma observa-se que todos os quatro genótipos agruparam-se junto ao 'Cariflora', sendo os mais próximos os genótipos do sexo feminino, em seguida o genótipo hermafrodita e por fim o genótipo masculino. Esse agrupamento do genótipo hermafrodita entre os femininos e masculino vem reforçar os resultados, indicando a existência de um representante hermafrodita para o genótipo Cariflora. Assim, este genótipo pode ter sido originado a partir de algum tipo de modificação genética, como por exemplo, por uma mutação na região cromossômica que controla a expressão do sexo no mamoeiro.

A análise do nível de homozigose mostrou que esses genótipos apresentam valores maiores do que o 'Cariflora' utilizado neste trabalho, sendo o genótipo 46 (sexo feminino) o mais próximo entre os quatro, com nível de homozigose de 44%, enquanto os genótipos 47, 48 e 49 apresentaram um nível de 65%, 71% e 65%, respectivamente.

Com o resultado dessas análises, este genótipo hermafrodita passa a ser um material promissor para os programas de melhoramento genético do mamoeiro, visto que possibilita sua utilização em cruzamentos para a obtenção de materiais genéticos superiores, ampliando assim, as possibilidades para o trabalho dos melhoristas.

Embora um dos objetivos gerais deste trabalho seja a conversão sexual do genótipo Cariflora do estado dióico para ginóico-andromonóico, a avaliação e seleção de indivíduos nas gerações segregantes deixa de ser apenas com o objetivo de recuperação do 'Cariflora', passando a buscar genótipos segregantes superiores que possuam atributos agronômicos desejáveis, com o objetivo de obter a curto e médio prazo linhagens endogâmicas superiores para o conjunto de variáveis estudadas.

Considerando que a população avaliada possui dentre outras características o hermafroditismo e a polpa de cor vermelha, é importante direcionar a seleção para genótipos mais próximos geneticamente do 'Cariflora', devido a sua boa capacidade geral de combinação (CGC) quando cruzado com genótipos do grupo Solo, além de uma alta produtividade e considerável resistência ao vírus do mosaico. Por se tratar de materiais geneticamente distantes, observa-se um grande vigor na progênie resultante deste cruzamento, resultado verificado por Marin (2001) ao avaliar a habilidade combinatória de genótipos dos grupos 'Solo' e 'Formosa'. Entretanto, apesar das vantagens em selecionar genótipos mais próximos do genitor recorrente, esta não é a única prioridade do programa, ou seja, deve-se considerar também a seleção de bons segregantes, com alto nível de homozigose, para que em etapas futuras estes possam ser lançados como variedades ou genitores de híbridos com elevado grau de estabilidade. Assim, tanto os genótipos que se encontram próximos ao genitor recorrente na análise de agrupamento quanto os que estão mais distantes podem ser selecionados para o avanço de geração, pois, além das avaliações genotípicas é necessário considerar os resultados das análises fenotípicas para que sejam selecionados genótipos realmente superiores.

### 3.2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aradhy, M.; Masshardt, R.; Zee, F.; Morden C. (1999) A phylogenetic analysis of the *Carica* sp. Caricaceae based on restriction fragment length variation in a cpDNA intergenic spacer region. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 46: 579-586.
- Arumuganathan, K.; Earle, E. D. (1991) Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 9: 208-218.
- Carneiro, N.P. (2002) Tipos de marcadores utilizados no melhoramento de plantas. In: VI Simpósio sobre atualização em genética e melhoramento de plantas. TEMA: *Melhoramento de plantas na era dos marcadores de moleculares*. Lavras-MG, p.1-12.
- Cruz, C. D. (2001) Programa Genes (Versão Windows): aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 648p.
- Dantas, J. L. L.; Dantas, A. C. V. L.; Lima, J. F. (2002) Mamoeiro. In: *Melhoramento de fruteiras tropicais*. 1 ed. Viçosa – MG: UFV, p. 309-349.
- Ferreira, M. E. E., Grattapaglia, D. (1998) *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. Embrapa – Cenargen, Brasília-DF. 220p.
- Foltran, D. E.; Gonçalves, P. D. S.; Sabino, J. C.; Igue, T.; Vilela, R. C. F. (1993) Estimates of genetic and phenotypic parameters in papaya. *Bragantia*, v.52, n. 1, p. 7-15.

- Kim, M. S.; Moore, P. H. (2002) Genetic diversity of *Carica papaya* as revealed by AFLP markers. *Genome*, 45:503-512.
- Maniatis, T.; Fritsch, E. F.; Sambrook, L. (1989) *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Marin, S. L. D. (2001) *Melhoramento genético do mamoeiro (Carica papaya L.): Habilidade combinatória de genótipos dos grupos 'Solo' e 'Formosa'*. Tese de Doutorado, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 117p.
- Matioli, S. R. (2001) *Biologia molecular e evolução*. Editora Holos, p. 202.
- Morshidi, M. (1998) Genetic control of isozymes in *Carica papaya* L. *Euphytica*, 103: 89-94.
- Oliveira, A. M. G.; Farias, A. R. N.; Santos Filho, H. P.; Oliveira, J. R. P.; Dantas, J. L. L.; Santos, L. B. dos; Oliveira, M. de A.; Souza Júnior, M. T.; Silva, M. J.; Almeida, O. A. de; 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.
- Parasnis, A. S.; Ramakrishna, W.; Chowdari, K. V. (1999) Microsatellite (GATA)<sub>n</sub> reveals sex-specific differences in Papaya. *Theoretical Applied Genetics*, Berlin, 99: 1047-1052.
- Pérez, O. J.; Dambier, D.; Ollitrault, P.; Coppens, D. G.; Brottier, P.; Froelicher, Y.; Risterucci, A. M. (2006a). Sequências de clones com região microssatélite. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?db=nucleotide&val=88174231>. Acessado em 20 de janeiro de 2006.
- Pérez, O. J.; Dambier, D.; Ollitrault, P.; Coppens, D. G.; Brottier, P.; Froelicher, Y.; Risterucci, A. M. (2006b). Microsatellite markers in *Carica papaya* L.: isolation, characterization and transferability to *Vasconcellea* species. *Molecular Ecology Notes*, 6: 212-217.

- Santos, S. C.; Ruggiero, C.; Silva, C. L. S. P.; Lemos, G. M. (2003) A microsatellite library for *Carica papaya* L. cv Sunrise Solo. *Revista Brasileira de Fruticultura*. Jaboticabal-SP, 25: 263-267.
- Sharon, D., Hiller, J.; Vainstein, A.; Lavi, U. (1992) Application of DNA fingerprints for identification and genetic analysis of *Carica papaya* L. and other *Carica* species. *Euphytica*, Wageningen, 62: 119-126.
- Silva, F. F.; Pereira, M. G., Campos, W.F.; Damasceno Junior, P. C.; Pereira, T. N. S., Souza Filho, G.A.Viana, A. P., Ferregueti, G. A. (2006a) Monitoramento da diversidade genética em progenitores de mamoeiro 'Formosa' do híbrido UENF/CALIMAN 1 via RAPD. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 6: (Prelo).
- Silva, F. F.; Pereira, M. G., Campos, W.F.; Damasceno Junior, P. C.; Pereira, T. N. S., Souza Filho, G.A.; Ramos, H. C. C.; Viana, A. P., Ferregueti, G. A. (2006b) DNA marker-assisted sex conversion in elite papaya genotype (*Carica papaya* L.). *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 7: 1-7.
- Squirrell, J., Hollingsworth, P. M., Woodhead, M., Russell, J., Lowe, A. J., Gibby, M., Powell, W. (2003) How much effort is required to isolate nuclear microsatellites from plants? *Molecular Ecology* 12:1339-1348.
- Stachel, M., T. Lelley, H. Grausgruber, and J. Vollmann (2000) Application of microsatellites in wheat (*Triticum aestivum* L.) for studying genetic differentiation caused by selection for adaptation and use. *Theor. Appl. Genet.* 100, 242—248.
- StatSoft Inc. (1999) Statistica 6 for Windows. <http://www.statsoft.com.br>
- Stiles, J. I.; Lemme, C.; Sondur, S.; Morshidi, B. M.; Manshardt, R. (1993) Using randomly amplified polymorphic DNA for evaluating genetic relationships among papaya cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 85: 697-701.
- 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.
- Wang, Z. Weber, D. J. L.; Zhong, G.; Tanksley, S. D. (1994) Survey of plant short tandem DNA repeats. *Theoretical Applied Genetics*, Berlin, v.88, p. 1-6.

#### 4. RESUMO E CONCLUSÕES

Apesar de o Brasil se destacar como o maior produtor mundial de mamão, ainda existe limitação de alternativas para a escolha de variedades e/ou híbridos comerciais para o plantio que atendam tanto às exigências do mercado nacional quanto internacional e poucos trabalhos têm sido desenvolvidos visando o estudo da herança das principais características de importância para o melhoramento da cultura. Nesse sentido, um dos objetivos deste trabalho foi obter informações sobre a influência da sazonalidade na expressão sexual em gerações segregantes e em genótipos elite de mamoeiro, realizando um levantamento das deformações (carpelóides e pentândricas) e das reversões ocorridas em flores hermafroditas durante o período de avaliação, bem como estimar alguns parâmetros e o ganho genético direto com a seleção para algumas características relevantes no melhoramento do mamoeiro. O segundo objetivo desse trabalho foi utilizar marcadores microssatélites como ferramenta auxiliar na seleção em geração  $S_2$  de mamoeiro, realizando o monitoramento do nível de homozigose e da proporção do genoma do genótipo recorrente ('Cariflora') dentro da população segregante  $52RC_1S_1$ , além de identificar indivíduos segregantes favoráveis para avaliação como novas variedades ou genitores de híbridos de mamão.

Em função dos resultados alcançados neste trabalho pôde-se concluir que:

- I. Existe variabilidade genética entre e dentro dos tratamentos, possibilitando a identificação de genótipos com maior potencial para baixa ou nula expressão das deformações florais e da reversão sexual.

- II. Os resultados divergentes encontrados neste trabalho, relativos a época de maior e menor expressão das características, sugerem a participação de inúmeros fatores ambientais interagindo com os mecanismos genéticos.
- III. A análise das características relacionadas à frutificação mostrou-se bastante satisfatória, visto que pode possibilitar, futuramente, o plantio de diferentes materiais genéticos, visando o aumento da diversidade no campo e, principalmente, a redução da flutuação da produção.
- IV. A análise dos parâmetros e das correlações genéticas permite inferir que maior eficiência será alcançada a partir da avaliação da frutificação em vez da floração, tornando o processo de avaliação mais rápido, prático e direto. Quanto a reversão sexual, sua avaliação pode ser feita a partir da mensuração do “pescoço”, sendo este também um método prático e rápido, contribuindo para um maior êxito na seleção.
- V. A expressão de todas as características durante o inverno e a primavera é determinada mais por fatores genéticos do que ambientais, sendo então essas épocas indicadas para a seleção. Por outro lado, durante o verão e o outono ocorre uma maior participação dos fatores ambientais na expressão de algumas características, principalmente na produção de frutos carpelóides e de flores hermafroditas normais.
- VI. Os resultados das correlações genéticas sugerem que a manifestação de um grande número de flores não necessariamente resultará em um número maior de frutos. Por outro lado o NFrT é a característica mais importante quando se deseja selecionar genótipos de mamão mais produtivos.
- VII. A correlação genética baixa e negativa encontrada entre o NFHN e o NFrCo indica que em programas de melhoramento não se deve selecionar em uma população segregante plantas para maior produtividade com base apenas no número de flores hermafroditas normais, pois estas não são representativas do NFrCo.
- VIII. As correlações significativas com valor positivo e negativo observadas ao correlacionar os caracteres entre épocas diferentes indicam que o comportamento dos genótipos para tais caracteres não representam apenas uma situação momentânea, podendo estes resultados serem usados para nortear procedimentos de seleção nos programa de melhoramento.

- IX. Os elevados ganhos genéticos apresentados pelos genótipos da geração RC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub> indicam que os materiais segregantes dispõem de uma ampla variabilidade genética para as características utilizadas como critério de seleção, sendo estes promissores para o avanço de gerações. Por outro lado, o tratamento 72/12 x RC<sub>1</sub> apresentou baixa variância genética, o que refletiu em um baixo percentual de ganho para os caracteres avaliados.
- X. Os marcadores microssatélites mostraram-se eficientes em acessar o nível de homozigose da população, bem como em detalhar a proporção genômica dos genótipos segregantes.
- XI. Os níveis de homozigose encontrados indicam que em uma próxima geração de autofecundação podem ser encontrados genótipos com elevados graus de estabilidade.
- XII. A observação de indivíduos com proporção genômica do genitor recorrente abaixo de 50% pode estar relacionado ao limitado número de locos trabalhados, podendo esta questão ser contornada com a análise de um maior número de regiões genômicas, contribuindo para a obtenção de resultados mais próximos ao esperado.
- XIII. Além disso, a seleção com base em atributos fenotípicos pode ter resultado em um desvio a favor do genitor doador.

## 5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrianual, 2002 (2002) *Anuário da Agricultura Brasileira*, São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 536p.
- Ainsworth C., Parker J., Buchanan-Wollaston V. (1998) Sex determination in plants. *Curr Top Dev Biol* 38:167–223.
- Alves, F. L. (2003) A cultura do mamão *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: tecnologias da produção. Vitória, ES: INCAPER, 497p.
- Anuário Brasileiro de Fruticultura (2004), Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 136p.
- Arkle, Jr, T. D., Nakasone, H. Y. (1984) Floral differentiation in the hermaphroditic papaya. *Hort Science* 19:832-834.
- Borém, A. (2005) *Melhoramento de plantas*. 4ª Edição. Viçosa: UFV, 525p.
- Bracale, M., Caporali, E., Galli, M. G., Longo, C., Marzianilongo, G., Rossi, G., Spada, A., Soave, C., Falavigna, A., Raffaldi, F. F., Maestri, E., Restivo, F. M., Tassi, F. (1991) Sex determination and differentiation in *Asparagus officinalis* L. *Plant Science* 80: 67–77.
- BRAPEX. Exportação de mamão. In: [http://www.brapex.net/index\\_1024.asp](http://www.brapex.net/index_1024.asp), acessado em 10 de março de 2006.
- Cattaneo, L. F.; Daher, R. F.; Marin, S. L. D.; Pereira, M. G. (1999) Avaliação de divergência genética em mamoeiro (*Carica papaya* L.) utilizando marcadores

- RAPD. Anais do Congresso Nacional de Genética, 45, Gramado: SBG, P.524.
- 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.
- Chen, M. H., Chen, C. C., Wang, D. N., Chen, F. C. (1991) Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of *Carica papaya* x *Carica cauliflora* cultured in vitro. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v.69, n.9, p. 1913-1918.
- Conover, R.A., Litz, R.E., Malo, S.E. (1986) Cariflora, a papaya for South Florida with tolerance to papaya ringspot virus. Florida: Agricultural Experiment Station, University of Florida, (Circular, 329), 3p.
- 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
- Creste, S.; Silva, S. O.; Tulmann Neto, A.; Figueira, A. (2002) Marcador microssatélite determinando nível de ploidia e presença do genoma 'B' em genótipos de *Musa* spp. In: *XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura*. Anais. Belém, PA.
- Cruz, C. D., Carneiro, P. C. S. (2003) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: UFV, v.2, 585p.
- Cruz, C. D., Regazzi, A. J. (1997) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Editora UFV, Viçosa, 390p.
- Cruz, C. D.; Regazzi, A. J. (2001) *Métodos biométricos aplicados ao melhoramento genético*, 2ª ed. Ver. Viçosa: UFV. 390p.
- Dantas, J. L. L. (2000) Introdução. In: Trindade, A. V. *Mamão. Produção: aspectos técnicos*. Brasília: EMBRAPA-CNPMFT, p.9.
- Dantas, J. L. L.; Dantas, A.C.V.L.; Lima, J.F. (2002) *Melhoramento de fruteiras tropicais*. Viçosa, UFV. p. 422.
- Dantas, J. L. L.; Souza, J. S.; Pinto, R. M. S.; Lima, J. F. (2003) *A cultura do mamoeiro: Tecnologia de produção*. Vitória, ES: INCAPER, 497p.

- Datta, P. C. (1971). Chromosomal biotypes of *Carica papaya* Linn. *Citologia* 36: 555-562.
- Doyle, J. J., Doyle, J. L. (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12:13-15.
- Falconer, D. S. (1987) *Introdução à genética quantitativa*. Viçosa, UFV, p. 279.
- Faleiro, A. S. G.; Faleiro, F. G.; Lopes, U. V.; Melo, G. R. P.; Monteiro, W. R.; Yamada, M. M.; Bahia, R. C. S.; Corrêa, R. X. (2004a) Variability in cação selected by producers for resistance to witches broom based on microsatellite markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 4: 290-297.
- Ferreira, M. E.; Grattapaglia, D. (1995) *Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética*. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, p. 220
- Ferreira, M. E.; Grattapaglia, D. (1998) *Introdução ao uso de marcadores moleculares*. 3ª ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, p. 220.
- Frankel, R., Galun, E. (1977) *Pollination mechanisms, Reproduction and Plant Breeding*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, 281p.
- Furtado, M.R. (1996) *Alternativas de seleção no delineamento I de Comstock e Robinson, em milho*. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Viçosa - MG, UFV, 94p.
- Gabriel, A. P. C. (2004) *Marcadores de DNA como ferramenta para maximizar os ganhos genéticos em um programa de Seleção Recorrente Recíproca de famílias de irmãos completos em milho (Zea mays L.)* Monografia (Ciências Biológicas) Campos dos goytacazes, RJ. Universidade Estadual do Norte Fluminense- UENF, 36p.
- Gao, L. Z.; Schaal, B.; Zhang, C. H.; Jia, J. Z.; Dong, Y. S. (2002) Assessment of population genetic structure in common wild rice *Oryza rufipogon* Griff. using microsatellite and allozyme markers. *Theoretical and Applied Genetics* 106 (1): 173-180.
- Guimarães, C. T.; Moreira, M. A.; (1999) Genética molecular aplicada ao melhoramento de plantas. In: Borém, A. (ed.) *Melhoramento de espécies cultivadas*. Viçosa: UFV, 817p.
- Harkness, R. W. (1967) *Papaya growing in Florida*. Florida: Fla. Agr. Ext. Serv.
- Hofmeyr, J. D. J. (1938) *Genetical studies of Carica papaya* L. African Dept. Agric. For Sci., Bull. 187:1-46.

- Ishii, Y., Holtzmann, O. W. (1963) Papaya mosaic disease in Hawaii. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, v.47, p. 947-951.
- Jindal, K. K. and Singh, R. N. (1976) Sex determination in vegetative seedlings of *Carica papaya* by phenolic tests. *Scientia Horticulturae* 4 : 33-39.
- Joly, A. B. (1993) Família Caricaceae. In: *Botânica: Introdução à taxonomia vegetal*, 11 ed.. São Paulo: Editora Nacional; 490p.
- Khryanin, V. N. (2002) Role of phytohormones in sex differentiation in plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, v. 49, n. 4, p. 545-551.
- Louis, J. P. (1989) Genes for the regulation of Sex differentiation and male fertility in *Mercurialis annual* L. *Journal of Heredity*, 80:104-111.
- Madrigal, L., Ortiz, A. N., Cooke, R. D., Fernandez, R. H. (1980) The dependence of crude papain yields on different collection ('Tapping') procedures for papaya latex. *J Sci Food Agric* 31:279-285.
- Magdalita, P. M.; Mercado, C. P. (1997). Determining the sex of papaya for improved production. University of the Philippines at Los Banos College, Laguna, Philippines.
- Marin, S. L. D.; Gomes, J. A. (1986) Morfologia e biologia floral do mamoeiro. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, 12(134): 10-14.
- Marin, S. L. D., Ruggiero, C. (1988) Toxicidade de inseticidas, acaricidas e fungicidas ao mamoeiro (*Carica papaya* L.) cultivar Solo. In: *Simpósio Brasileiro Sobre a Cultura do Mamoeiro*, 2., 1988, Jaboticabal, SP. Anais. Jaboticabal, SP: FCAV/UNESP, p. 219-228.
- Marin, S. L. D., Gomes, J. A., Silva, J. G. F., Salgado, J. S. (1994) Variação sazonal da produção do mamoeiro do grupo solo na região Norte do Espírito Santo. In: *Congresso Brasileiro de Fruticultura*, 13., 1994, Salvador. Resumos. Salvador: Sociedade Brasileira de Fruticultura. v. 2, 665p.
- Marin, S. L. D. (2001) *Melhoramento genético do mamoeiro (Carica papaya L.): habilidade combinatória de genótipos dos grupos 'Solo' e 'Formosa'*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 117p.
- Martins, D. S.; Costa, A. F. S. (2003) *A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção*. Vitória, ES. INCAPER, p. 497.

- 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.
- Milach, S. C. K. – Marcadores de DNA, <http://biotecnologia.com.br/bio05/marcadoresdna>, acessado em 10/03/06. Página mantida pela *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*.
- Nakasone, H. Y. (1980) Melhoramento de mamão no Havaí. In: *Simpósio Brasileiro sobre a Cultura do Mamão*, 1. Jaboticabal, SP. Anais: Jaboticabal, SP: FCAV/UNESP, p. 275-287.
- Nakasone, H. Y., Paull, R. E. (1998) Tropical fruits. Crop production Science in Horticulture. New York: *Cab International*, 445p.
- Oliveira, A. M. G.; Farias, A. R. N.; Santos Filho, H. P.; Oliveira, J. L. L.; Santos, L. B.; Oliveira, M. A.; Souza Júnior, M. T.; Silva, M. J.; Almeida, O. A.; Nickel, O.; Medina, V. M.; Cordeiro, Z. J. M. (1994) *Mamão para exportação: aspectos técnicos da produção*. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 52p. (FRUPEX. Série de publicações técnicas, 9).
- Parasnis, A. S., Ramakrishna, W., Chowdari, K. V., Gupta, V. S., Ranjekar, P. K. (1999) Microsatellite (GATA)<sub>n</sub> reveals sex-specific differences in papaya. *Theor Appl Genet* 99:1047-1052.
- Pereira, M. G., Marin, S. L. D., Viana, A. P., Ferregueti, G. A., Martelleto, L. A. P., Cattaeneo, L. F., Pereira, T. N. S. (2003) Melhoramento genético do mamoeiro (*Carica papaya* L.): desenvolvimento e recombinação de híbridos. Resumo expandido enviado para o 2º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas . Porto Segura-BA.
- Pereira, M. G. Marcadores moleculares no melhoramento de plantas. In: <http://www.biotecnologia.com.br/biochat/artigos/artigo.asp?id=17>, acesso em 9 de março de 2006.
- Pereira, M. G., Pereira, T. N. S. (2006) Marcadores moleculares no Pré-Melhoramento de plantas. In: Borém, A. e Caixeta, E.T. *Marcadores moleculares*. Viçosa: UFV, p.85-106.
- Pérez, E. G. (2004) Melhoramento do mamoeiro. Toda Fruta ([http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra\\_conteudo.asp?conteudo=6062](http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=6062)), acessado em 12/11/2006.

- Ramalho, M. A. P., Santos, J. B. (2000) *Genética na agropecuária*. Lavras-MG : UFLA, p. 472.
- Ritzinger, C. H. S. P., Souza, J. S. (2000) *Mamão. Fitossanidade*. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, Ba. Brasília- CNPMFT, p. 91. (Frutas do Brasil).
- Rodríguez, R. E. S. (1998) *Estimativa dos parâmetros genéticos e de resposta à seleção na população de arroz irrigado CNA1*. Dissertação (Mestrado) Goiânia-GO, Universidade Federal de Goiás, UFG; 87p.
- Ruggiero, C. (1988) Mamão: situação da cultura do mamão. In: *II Simpósio Brasileiro sobre a Cultura do Mamão*, Jaboticabal, FCAV/UNESP. Anais. Jaboticabal, SP, p. 428.
- Ruggiero, C.; Durigan, J. F.; Góes, A.; Natale, W.; Benassi, A. C. (2003) Panorama da cultura do mamão no Brasil e no mundo: situação atual e tendências. In: *Papaya Brasil: qualidade do fruto do mamão no mercado interno*. Vitória, ES. INCAPER, p. 13-34.
- Sampaio, H. S. de V., Luna, J. V. U., Sampaio, L. S. de V. (1983) Comportamento de linhas endógamas de mamão (*Carica papaya* L.) e seus híbridos, em solo infestado com *Phytophthora* sp. *Magistra*, Cruz das Almas, v.1, p.36-45.
- Serafim, D. C. S.; Irala, P. B.; Lampe, V. S.; Wagner, C. M.; Revers, L. F.; Camargo, U. A.; Oliveira, P. R. D.; Garrido, L. R.; Machado, C. E. (2002) Melhoramento genético da videira na Embrapa uva e vinho: utilização de marcadores microsatélites para proteção intelectual e aferição da identidade genotípica. In: *XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura*. Anais. Belém, PA.
- Sharon, D., Hillel, J., Vainstein, A., Uri, L. (1992) Application of DNA fingerprints for identification and genetic analysis of *Carica papaya* L. and other *Carica* species. *Euphytica*, 62: 119-126.
- Silva, F. F. (2006) *Abordagem clássica e molecular do melhoramento genético do mamoeiro (Carica papaya L.)*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro– UENF, 147p.
- Soares, P. C.; Melo, P. G. S.; Melo, L. C.; Soares, A. A. (2005) Genetic gain in an improvement program of irrigated rice in Minas Gerais. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 5: 142-148.

- Sondur, S. N., Manshardt, R. M., Stiles, J. I. (1996) A genetic linkage map of papaya based on randomly amplified polymorphic DNA markers. *Theor. Appl. Genet.*, 93: 547-553.
- Souza, J. S. (2000) Aspectos socioeconômicos. In: *Mamão Produção: Aspectos técnicos*. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas-BA. Brasília-CNPMT, 77p. (Frutas do Brasil).
- Storey, W. B. (1953) Genetics of the papaya. *Jour. Hered.*, 44: 70-78.
- Urasaki, I. N., Tokumoto, M., Torora, K., Ban, Y., Kayano, T., Tanaka, H., Oku, H., Chinen, I., Terauchi, R. (2002). A male and hermaphrodite specific RAPD markers for papaya (*Carica papaya* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 104 (2-3): 281 – 285.
- Tanurddzic, M., Banks, J. A. (2004) Sex-determining Mechanisms in Land Plants. *The Plant Cell*, 16:61-71.
- Tooke, F., Ordidge, M., Chiurugwi, T., Battey, N. (2005) Mechanisms and function of flower and inflorescence reversion, *Journal of Experimental Botany*, 56 : 2587-2599.
- Vencovsky, R. Herança quantitativa. In: Paterniani, E. (coord.) *Melhoramento e produção de milho no Brasil*. Piracicaba, ESALQ/USP, 1978. p.122-201.