

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE GENÓTIPOS DE MAMOEIRO
(*Carica papaya* L.) VIA MARCADORES SSR-EST E SUA RELAÇÃO
COM A RESISTÊNCIA AO *Papaya ringspot virus*

RONALDIANE PEREIRA DA SILVA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO-UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES- RJ
FEVEREIRO 2025

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE GENÓTIPOS DE MAMOEIRO
(*Carica papaya* L.) VIA MARCADORES SSR-EST E SUA RELAÇÃO
COM A RESISTÊNCIA AO *Papaya ringspot virus*

RONALDIANE PEREIRA DA SILVA

“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 Mestra em Genética e Melhoramento de Plantas”

Orientadora: Dra. Helaine Christine Cancela Ramos

CAMPOS DOS GOYTACAZES- RJ
FEVEREIRO 2025

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

S586

Silva, Ronaldiane Pereira da.

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE GENÓTIPOS DE MAMOEIRO (*Carica papaya* L.) VIA MARCADORES SSR-EST E SUA RELAÇÃO COM A RESISTÊNCIA AO *Papaya ringspot virus* / Ronaldiane Pereira da Silva. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2025.

68 f. : il.

Bibliografia: 43 - 51.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2025.
Orientadora: Helaine Christine Cancela Ramos.

1. Marcadores Microsatélites. 2. Diversidade Genética;. 3. PRSV-P. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 631.5233

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE GENÓTIPOS DE MAMOEIRO
(*Carica papaya* L.) VIA MARCADORES SSR-EST E SUA RELAÇÃO
COM A RESISTÊNCIA AO *Papaya ringspot virus*

RONALDIANE PEREIRA DA SILVA

“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 Mestra em Genética e Melhoramento de Plantas.”

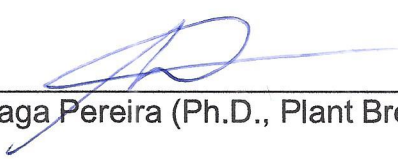
Aprovada em 26 de fevereiro de 2025.

Comissão Examinadora:



Documento assinado digitalmente
MONIQUE MOREIRA MOULIN
Data: 17/04/2025 16:35:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a. Monique Moreira Moulin (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - IFES



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



Dr.^a. Catiane dos Santos Braga (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - UENF



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

DEDICATÓRIA

Ao meu marido, Jonathan, pelo companherismo e apoio, e ao nosso filho, Pedro
que está a caminho.

Ao meu pai, José dos Santos, por sempre acreditar em mim (*in memoriam*).

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus, por Sua bondade, fidelidade e por estar presente em todos os momentos da minha vida, guiando-me e fortalecendo-me nesta jornada;

Ao meu marido, Jonathan, pelo incentivo, parceria e coragem de enfrentar essa nova etapa ao meu lado. Sua disponibilidade e apoio foram fundamentais para a conclusão deste trabalho;

À minha mãe, Simone, e aos meus irmãos, Simaira, João e Jorgiane, pelo carinho, compreensão, especialmente nos momentos em que estive distante durante períodos importantes;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas (PGGMP), pela oportunidade de realizar o mestrado e pela estrutura oferecida para o desenvolvimento desta pesquisa;

À professora Dra. Helaine Christine Cancela Ramos, minha orientadora, por todo o apoio, encorajamento, paciência e disponibilidade ao longo deste trabalho. Sua dedicação foi essencial para o sucesso desta etapa;

À Dra. Rafaela Pereira Duarte, por me acompanhar e auxiliar em todas as etapas desta pesquisa, sempre solícita e prestativa;

À Dra. Juliana Saltires Santos e à Dra. Catiane dos Santos Braga, pela disponibilidade e auxílios prestados durante a realização desta pesquisa;

Ao colega de laboratório Alex Souza Rodrigues pela ajuda nas avaliações

experimentais, nas tomadas de decisão e pelo companheirismo durante todo o processo;

À técnica do Laboratório de Genética Vegetal, Marcela Santana Bastos Boechat pelos ensinamentos, pela disponibilidade nas análises moleculares e pelo suporte técnico essencial;

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas (PGGMP), que contribuíram significativamente para o meu aprendizado e crescimento acadêmico;

Às minhas amigas do PGGMP, Bruna, Carolina e Lavínia, pelo incentivo, pelas conversas enriquecedoras e pelo apoio desde o primeiro dia;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001;

Por fim, a todos aqueles que torceram e acreditaram em mim, meu sincero agradecimento. Cada palavra de incentivo e gesto de apoio foi fundamental para a conclusão desta etapa.

Muito obrigada!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Análise eletroforética dos produtos de amplificação do DNA referentes ao <i>screening</i> de seis acessos de mamoeiro sendo: 57. BAG14; 59. BAG13; 61. BAG33; 82. BAG32; 93. BAG 31; 104. UENF09-10.....	27
Figura 2. Dendrograma gerado a partir da metodologia UPGMA com base na análise de 96 genótipos de mamoeiro e 9 <i>loci</i> relacionados à resistência a doença.	35
Figura 3. Dendrograma gerado a partir da metodologia UPGMA com base na análise de 52 genótipos de mamoeiro dioicos e 9 <i>loci</i> relacionados à resistência a doença.	36
Figura 4 . Dendrograma gerado a partir da metodologia UPGMA com base na análise de 44 genótipos de mamoeiro do Banco de Germoplasma UENF/Caliman e 9 <i>loci</i> relacionados à resistência a doença.....	37
Figura 5. Delta K (ΔK) para os respectivos números de grupos (K).....	388
Figura 6. Agrupamento de 96 acessos de mamoeiro obtido por inferência bayesiana: (A) estrutura populacional considerando K=2 ; (B) estrutura populacional considerando K=4.	39
Figura 7. Gráfico <i>Boxplot</i> representando a associação entre genótipo e fenótipo dos 9 <i>loci</i> SSR-EST e os índices de doença (ID) para PRSV-P.	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição dos acessos de <i>C. papaya</i> do Banco de Germoplasma UENF/Caliman.	13
Tabela 2. Descrição e origem dos frutos dioicos e hermafroditas de <i>C. papaya</i> coletados em cidades das regiões Norte e Noroeste do Rio de Janeiro e Norte e Sul do Espírito Santo.	14
Tabela 3. Caracterização dos 50 <i>loci</i> SSR-ESTs relacionados à resistência a doenças, com os respectivos Grupos de Ligação (GL) e funções. Dados baseados no atlas de marcadores SSR-ESTs de Vidal et al. (2014).	17
Tabela 4. Medidas de diversidade para os 9 <i>loci</i> SSR-EST analisados nos 96 acessos de mamoeiro.	29
Tabela 5. Medidas de diversidade genética para os 52 acessos de mamoeiro prospectados obtidos através da análise de 9 <i>loci</i> SSR-EST.	30
Tabela 6. Medidas de diversidade genética para os 44 acessos de mamoeiro do Banco Ativo de Germoplasma UENF/Caliman obtidos através da análise de 9 <i>loci</i> SSR-EST.	33

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo geral	3
2.2 Objetivos específicos	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1 Aspectos gerais do mamoeiro	4
3.2 Melhoramento do mamoeiro	6
3.3 Papaya ringspot virus e a cultura	8
3.4 Estudo de diversidade genética via marcadores moleculares.....	10
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
4.1 Material Vegetal	12
4.2 Coleta do Material Vegetal	15
4.3 Isolamento de DNA genômico.....	15
4.4 Seleção dos <i>Primers</i>	16
4.5 Análises moleculares via PCR	24
4.6 Análise Estatística.....	25

4.6.1 Análise da estrutura da população	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1 <i>Screening</i> de 50 <i>loci</i> SSR-ESTs	27
5.2 Análise descritiva dos <i>loci</i> SSR-EST	28
5.3 Análise de diversidade dos genótipos	30
5.4 Análise de <i>Boxplot</i>	40
6. CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
APÊNDICE.....	52

RESUMO

SILVA, Ronaldiane Pereira; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; fevereiro de 2025; Caracterização molecular de genótipos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) via marcadores *SSR-EST* e sua relação com a resistência ao Papaya ringspot vírus; Orientadora: D.Sc. Helaine Christine Cancela Ramos; Conselheiro: Ph.D. Telma Nair Santana Pereira e Ph.D. Messias Gonzaga Pereira.

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma espécie frutífera tropical de elevada relevância econômica, sendo o Brasil o quinto maior produtor mundial da cultura. O vírus da mancha anelar, denominado Papaya ringspot vírus (PRSV-P), constitui uma das principais ameaças fitossanitárias à cultura do mamoeiro. Esse patógeno, transmitido por pulgões, provoca deformações foliares, florais e frutíferas, comprometendo significativamente a qualidade e a produtividade das colheitas. Diante dos desafios impostos por essa virose, a busca por variedades resistentes é de fundamental importância. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo estimar a diversidade genética dos acessos de mamoeiro do Banco de Germoplasma UENF/Caliman por meio de marcadores *SSR-ESTs* (*Simple Sequence Repeats-Expressed Sequence Tags*) a fim de identificar padrões de similaridade genética potencialmente associados à resistência à doença. Foram analisados 96 acessos de *C. papaya* L., divididos em dois grupos: o primeiro, composto por 44 acessos do Banco de Germoplasma da UENF/Caliman, e o segundo, formado por 52 genótipos dioicos e hermafroditas coletados em diferentes localidades das regiões Norte e Noroeste do Rio de Janeiro, bem como do Noroeste

e Sul do Espírito Santo. Folhas jovens dos acessos foram coletadas para extração de DNA, o qual foi quantificado e diluído para a realização de PCRs com 9 *loci* gênicos pré-selecionados. O critério de seleção considerou a diversidade dos grupos de ligação, priorizando iniciadores com potencial associação à resistência a doenças virais. Esses *loci* estão relacionados a mecanismos de defesa da planta, embora não sejam específicos para o PRSV-P. O material amplificado foi submetido à eletroforese capilar para identificação e separação dos alelos. Os dados obtidos foram convertidos em uma matriz de dissimilaridade, permitindo a estimativa de métricas de diversidade genética, tais como o número de alelos (N_a), o conteúdo de informação polimórfica (PIC), a heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e), além do coeficiente de endogamia (F). Como resultados, foram detectados 24 alelos distintos, com uma média de 2,67 alelos por *locus*. A heterozigosidade esperada (H_e) média foi de 0,31, enquanto a heterozigosidade observada (H_o) média foi de 0,17. A análise das medidas de diversidade genética dos 52 acessos prospectados revelou média de H_e de 0,49, H_o de 0,23 e F de 0,56. Nos 44 acessos do banco de germoplasma, H_e foi semelhante 0,50, porém com H_o significativamente menor 0,07 e maior endogamia ($F = 0,87$). Com base no método hierárquico UPGMA, observou-se a formação de dois grupos, indicando a existência de variabilidade genética entre os genótipos. Adicionalmente, a análise Bayesiana revelou $k = 2$, sugerindo que a amostra pode ser dividida em dois grupos genéticos distintos. A análise de *Boxplot* não revelou associação direta entre os *loci* avaliados e a resistência ao PRSV-P, apesar da notação funcional dos *loci* com mecanismos de defesa contra patógenos virais. Esses achados contribuem para o entendimento da diversidade genética e fornecem informações relevantes para o desenvolvimento de estratégias de melhoramento genético do mamoeiro visando à resistência ao PRSV-P.

Palavras-chave: Marcadores microssatélites; diversidade genética; PRSV-P.

ABSTRACT

SILVA, Ronaldiane Pereira; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; february 2025; Molecular characterization of papaya (*Carica papaya* L.) genotypes using SSR-EST markers and their relationship with resistance to Papaya ringspot virus; Advisor: D.Sc. Helaine Christine Cancela Ramos; Counsellors: Ph.D. Telma Nair Santana Pereira and Ph.D. Messias Gonzaga Pereira.

Papaya (*Carica papaya* L.) is a tropical fruit species of high economic importance, with Brazil ranking as the fifth-largest producer worldwide. The Papaya ringspot virus (PRSV-P) is one of the major phytosanitary threats to papaya cultivation. Transmitted by aphids, this virus causes foliar, floral, and fruit deformities, severely affecting crop quality and yield. Given the challenges posed by this disease, the search for resistant varieties is essential. In this context, the present study aimed to estimate the genetic diversity of papaya accessions from the UENF/Caliman germplasm bank using SSR-EST (*Simple Sequence Repeats - Expressed Sequence Tags*) markers, in order to identify genetic similarity patterns potentially associated with resistance to PRSV-P. A total of 96 accessions of *C. papaya* L. were analyzed, divided into two groups: 44 accessions from the UENF/Caliman germplasm bank, and 52 dioecious and hermaphroditic genotypes prospectively collected from different locations in the North and Northwest regions of Rio de Janeiro and the Northwest and South of Espírito Santo. Young leaves were collected for DNA extraction, which was quantified and diluted for PCR using 9 pre-selected genic loci. The selection criterion prioritized loci with potential association

to viral disease resistance based on linkage group diversity. These *loci* are related to plant defense mechanisms, although not specific to PRSV-P. Amplified material was subjected to capillary electrophoresis for allele identification and separation. The data were converted into a dissimilarity matrix to estimate genetic diversity metrics, including the number of alleles (N_a), polymorphic information content (PIC), observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e), and the inbreeding coefficient (F). A total of 24 distinct alleles were detected, with an average of 2.67 alleles per locus. The overall mean H_e was 0.31, and H_o was 0.17. For the 52 prospectively collected accessions, H_e averaged 0.49, H_o 0.23, and F 0.56. In contrast, the 44 germplasm bank accessions showed a similar H_e (0.50), but lower H_o (0.07) and higher inbreeding ($F = 0.87$). Hierarchical clustering using the UPGMA method revealed the formation of two major groups, indicating the presence of genetic variability among the genotypes. Additionally, Bayesian analysis suggested an optimal $K = 2$, reinforcing the division of the sample into two genetically distinct groups. Boxplot analysis showed no direct association between the loci evaluated and PRSV-P resistance, despite the functional annotation of loci related to viral defense mechanisms. These findings contribute to the understanding of papaya genetic diversity and provide valuable information for breeding strategies aimed at PRSV-P resistance.

Keywords: Microsatellite markers; genetic diversity; PRSV-p.

1. INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma espécie frutífera tropical de grande relevância econômica e agrícola, cultivada extensivamente em regiões de clima quente ao redor do mundo. Introduzido no Brasil em 1587, o cultivo de mamão foi predominantemente com variedades dioicas ou de mamoeiro "comum" até o final da década de 1970. Atualmente, a espécie é altamente valorizada pela produção de frutos saborosos e nutritivos, ocupando a 12ª posição entre as culturas mais produzidas globalmente em termos de volume (Salomão; Siqueira, 2020). O Brasil destaca-se como o quarto maior produtor mundial, com uma produção de 1.107.761 milhões de toneladas em uma área colhida de 26 mil hectares (FAOSTAT, 2022).

Na década de 1970, o estado de São Paulo era um dos principais produtores nacionais de mamão. No entanto, a ocorrência do Papaya ringspot virus (PRSV-P) levou à eliminação da maioria dos plantios, resultando na migração da cultura para o nordeste do Pará, extremo sul da Bahia e norte do Espírito Santo (Ruggiero et al., 2011). Atualmente, a produção brasileira de mamão é liderada pelo estado do Espírito Santo, que se destaca como o maior produtor nacional, com 902 mil toneladas, representando cerca de 50% da produção total do país (Gonçalves et al., 2022). Em seguida, está a Bahia, com uma produção de 400.438 toneladas, cultivadas em aproximadamente 9.942 hectares, resultando em uma produtividade média de 40,28 toneladas por hectare. O Ceará aparece logo depois, com 140.979 toneladas colhidas em 1.993 hectares, alcançando uma produtividade de 70,74 t/ha, a mais alta entre os estados citados. Já o Rio Grande do Norte contribuiu com 103.431 toneladas, cultivadas em 2.396 hectares, com produtividade média de 43,17 t/ha (IBGE, 2021).

Apesar de sua importância econômica, a produção de mamão enfrenta desafios significativos que impactam tanto a produtividade quanto a qualidade dos frutos. O manejo inadequado do solo, práticas de irrigação incorretas, falta de poda adequada e controle insuficiente de ervas daninhas são fatores que podem comprometer o rendimento da cultura (Aular e Natale, 2013). Além disso, problemas fitossanitários, como pragas e doenças, representam ameaças críticas ao cultivo do mamoeiro (Amaral, 2022). Dentre as doenças, as viroses destacam-se como o principal obstáculo, devido à complexidade de seu controle e aos impactos severos que causam. As três viroses mais relevantes são o vírus-do-amarelo-letal, o vírus-da-meleira e o vírus-da-mancha-anelar (Oliveira et al., 2010).

A mancha-anelar, causada pelo Papaya ringspot virus (PRSV-P), é uma das doenças mais devastadoras para a cultura do mamoeiro. Transmitido por pulgões, o PRSV-P provoca deformações severas nas folhas, flores e frutos, comprometendo drasticamente a qualidade e a produtividade da colheita (Costa et al., 2003). Os sintomas iniciais da infecção incluem o amarelecimento das folhas mais jovens, seguido pela descoloração das nervuras, formação de rugosidades e padrões de mosaico nas folhas, além da redução da área foliar. Em estágios avançados, observam-se estrias oleosas nos pecíolos e na parte superior do caule, bem como a formação de anéis nos frutos, que resultam em alterações sensoriais, como perda de sabor e aroma, reduzindo significativamente a qualidade comercial da produção (Oliveira et al., 2000).

Diante dos desafios impostos pelo PRSV-P, torna-se essencial adotar estratégias inovadoras e eficazes para o manejo da doença. A análise da diversidade genética surge como uma ferramenta essencial tanto para a conservação de recursos genéticos quanto para o desenvolvimento de novas cultivares com características desejáveis, como resistência a doenças e alta produtividade (Faleiro et al., 2019). Nesse contexto, o Programa de Melhoramento Genético do mamoeiro da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) desempenha um papel fundamental na busca por variedades resistentes.

O presente estudo propõe a utilização de marcadores moleculares *SSR-EST* gênicos (*Simple Sequence Repeats*) para analisar a diversidade genética de genótipos de mamoeiro, com foco na resistência ao PRSV-P. Essa abordagem permitiu avaliar a variabilidade genética entre os genótipos e investigar possíveis associações com a resistência à doença, fornecendo bases para a seleção de genitores em programas de melhoramento.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estimar diversidade genética entre acessos de mamoeiro (*Carica papaya*.L) do Bando de Germoplasma UENF/Caliman por meio de marcadores microssatélites gênicos (*SSR-EST*), a fim de identificar padrões de similaridade genética que possam estar relacionados à resistência ao Papaya ringspot virus.

2.2 Objetivos específicos

1. Caracterizar a diversidade genética dos 96 acessos de mamoeiro do Banco de Germoplasma UENF/Caliman utilizando marcadores microssatélites gênicos relacionados a doenças;
2. Estimar a variabilidade genética dos 96 acessos do Banco de Germoplasma UENF/Caliman;
3. Avaliar a eficiência dos marcadores microssatélites na discriminação de genótipos resistentes ao Papaya ringspot virus;
4. Relacionar os padrões genéticos identificados com informações fenotípicas previamente disponíveis sobre resistência ao Papaya ringspot virus.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Aspectos gerais do mamoeiro

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) pertence à família Caricaceae, que compreende seis gêneros e 35 espécies (Badillo, 2000). Esses gêneros incluem *Cylicomorpha*, com espécies originárias da África Equatorial; *Jarilla* e *Horovitzia*, cujas espécies são encontradas principalmente na América Central; e *Jacaratia*, *Vasconcellea* e *Carica*, com espécies predominantes na América do Sul e América Central. Dentre esses, o gênero *Carica* se destaca por incluir exclusivamente a espécie cultivada, *C. papaya* (Badillo, 2000). O gênero *Carica* é representado por um arbusto perene de grande importância hortícola, sendo amplamente cultivado em regiões tropicais e subtropicais. Entre os principais produtores globais estão a Índia, o Brasil, a Indonésia, a Nigéria, o México e o Havaí (Xu et al., 2020). Os frutos do mamoeiro são reconhecidos por sua polpa nutritiva, rica em vitaminas A, C e E, vitaminas do complexo B, minerais e fibras alimentares.

O mamão comercial é classificado em dois grupos principais: Solo e Formosa. O grupo Solo é composto por variedades amplamente consumidas, conhecidas por sua produção precoce e frutos de formato periforme ou arredondado, com peso variando entre 300 e 650 gramas. Essas cultivares apresentam polpa de coloração laranja-avermelhada e sabor agradável, sendo especialmente indicadas para consumo *in natura* (Santana et al., 2023). Já os híbridos comerciais do grupo Formosa destacam-se por seus frutos maiores, com

polpa igualmente laranja-avermelhada, sendo amplamente valorizados nos mercados nacional e internacional (Reis et al., 2015).

A produção global de mamão tem crescido significativamente nas últimas décadas, posicionando-o como a quarta fruta tropical mais popular, atrás apenas da banana, da manga e do abacaxi (Xu et al., 2020). Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), a produção global de mamão ultrapassa 6,8 milhões de toneladas anuais, cultivadas em aproximadamente 440 mil hectares em todo o mundo. As Américas Central e do Sul, especialmente o Brasil, respondem por 47% dessa produção, garantindo um fornecimento consistente ao longo do ano (Santana et al., 2019). No cenário nacional, destacam-se o estado do Espírito Santo e a região Nordeste, cujas condições climáticas favoráveis permitem a produção e exportação contínua de mamão durante todo o ano (Evans e Ballen, 2012).

O mamoeiro é uma espécie trioica, apresentando três tipos sexuais distintos: feminino, masculino e hermafrodita (Na et al., 2012). Nas populações silvestres, a espécie é dioica, com plantas separadas de sexos feminino e masculino. Já nas populações cultivadas, predomina o sistema ginoico-andromonoico, caracterizado pela coexistência de plantas femininas e hermafroditas (Zhou et al., 2022).

Cada tipo sexual apresenta características morfológicas e reprodutivas específicas. As flores femininas, localizadas no caule da planta, dependem do pólen de outra planta para a fertilização e produção de frutos. As flores hermafroditas, por sua vez, possuem pistilos e estames maduros, permitindo a autopolinização. No entanto, condições de estresse podem induzir a mudança de sexo de hermafrodita para masculino. Por fim, as flores masculinas apresentam pedúnculos ramificados e longos, com estames que produzem abundante pólen, mas seus pistilos são abortados, impedindo a formação de frutos (Liao et al., 2021).

O cultivo de mamoeiros hermafroditas oferece vantagens significativas em comparação com plantas femininas ou masculinas, como custos reduzidos e maior produtividade, uma vez que todas as plantas são capazes de produzir frutos (Lee et al., 2018). Os frutos hermafroditas apresentam formato alongado, variando de piriforme a cilíndrico, e possuem uma cavidade interna pequena, o que confere maior espessura de polpa. Essas características agregam valor comercial aos frutos, tornando-os mais atrativos para o mercado (Costa e Pacova, 2003).

3.2 Melhoramento do mamoeiro

Os primeiros trabalhos de melhoramento genético do mamoeiro do grupo Formosa começaram na década de 1970, na Universidade de Fengshan, em Taiwan (antiga Formosa), resultando nos híbridos 'Tainung 01' e 'Tainung 021' (Marin et al., 2018). No Brasil, o cultivo do mamoeiro evoluiu significativamente desde meados do século XX, consolidando o país como o segundo maior exportador mundial da fruta. A partir de 1982, avanços expressivos no melhoramento genético impulsionaram o desenvolvimento de variedades do grupo Solo, que passaram a atender tanto o mercado interno quanto o externo (Ruggiero et al., 2011).

De acordo com Dantas e Lima (2001), a modernização das práticas agrícolas, aliada à adoção de novas técnicas de cultivo, constitui uma estratégia eficaz para ampliar a produtividade do mamoeiro. Essas melhorias não apenas elevam a qualidade dos frutos, mas também contribuem para um aumento significativo na produção total.

Com a expansão das áreas de plantio, a demanda por pesquisas em diversas áreas, incluindo o melhoramento genético, tem crescido continuamente. Atendendo a essa necessidade, diversas instituições de pesquisa, universidades e iniciativas privadas, tanto em âmbito federal quanto estadual, têm desenvolvido estudos e projetos na área (Dantas et al., 2011). No Brasil, apenas três programas atuam diretamente no melhoramento genético do mamoeiro: o Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper), a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), em parceria com a empresa Caliman Agrícola S.A., e a Embrapa Mandioca e Fruticultura (Dantas et al., 2012).

O Programa de Melhoramento Genético da UENF tem sido um marco na agricultura, alcançando um avanço significativo com o desenvolvimento de 21 novas cultivares de mamão. Esse progresso não só reduziu a dependência brasileira da importação de sementes híbridas, como também ampliou as opções disponíveis para agricultores e consumidores. Além disso, tais inovações fortaleceram a posição do Brasil no mercado agrícola global, permitindo a exportação de sementes de mamão (Bohry et al., 2021).

A parceria entre a UENF e a empresa Caliman, denominada UENF/CALIMAN, dedica-se há mais de duas décadas ao desenvolvimento de híbridos superiores. Seu principal objetivo é a obtenção de genótipos com

características agronomicamente desejáveis, como alta produtividade, qualidade dos frutos e resistência a doenças (Santana et al., 2023).

Marin et al. (2002) realizaram cruzamentos dialélicos entre variedades dos grupos Solo e Formosa em colaboração com a UENF/CALIMAN. Como resultado, o Brasil lançou seu primeiro híbrido comercial, o 'UENF-Caliman 01', atualmente conhecido como 'Candy'. Posteriormente, essa parceria bem-sucedida levou ao lançamento de uma série de outros híbridos, incluindo 'UENF-Caliman 02', 'UENF-Caliman 03', 'UENF-Caliman 04', 'UENF-Caliman 05', 'UENF-Caliman 06' e 'UENF-Caliman 07' (Marin et al., 2018).

A colaboração entre a UENF e a Caliman também impulsionou diversas pesquisas científicas. Netto et al. (2009) caracterizaram fisiologicamente dois híbridos desenvolvidos para o norte/noroeste do Rio de Janeiro ('UENF/Caliman 01' e 'JS12') e os compararam com três genótipos comerciais amplamente cultivados (Golden, Sunrise Solo 7212 e Tainung). Os resultados indicaram que os híbridos da UENF apresentam capacidade fotossintética e características morfológicas similares às dos principais genótipos comerciais.

Da Luz et al. (2015) avaliaram sete híbridos de mamão desenvolvidos no Programa de Melhoramento Genético da UENF. Esses híbridos, produzidos na unidade de sementes da Caliman Agrícola S.A., em Linhares-ES, foram obtidos a partir de genitores endogâmicos preservados no Banco de Germoplasma da UENF/CALIMAN. O estudo revelou que alguns híbridos apresentaram rendimentos quase duas vezes superiores às variedades padrão, além de exibirem alto teor de sólidos solúveis e baixo número de flores estéreis.

Pereira et al. (2019) introduziram uma nova cultivar de mamão, denominada 'UC10' (atualmente conhecida como 'Vitória'), recomendada para as regiões Sudeste e Norte do Brasil devido ao seu excelente desempenho agrônomo e adaptação climática. Essa cultivar, do tipo Formosa, apresenta frutos de aproximadamente 1,9 kg, com rendimento de 260 toneladas por hectare e produção precoce. Além disso, destaca-se pelo sabor, tornando-se altamente atrativa para os consumidores. Esses avanços demonstram o compromisso das instituições de pesquisa com o aumento da produtividade e qualidade do mamão.

O aprimoramento genético do mamoeiro tem sido essencial para fortalecer a competitividade do Brasil no mercado agrícola. À medida que as técnicas de melhoramento continuam a evoluir, novas estratégias podem ser incorporadas para

otimizar a qualidade e produtividade da cultura, contribuindo para suprir a crescente demanda global por alimentos de alta qualidade.

3.3 Papaya ringspot virus e a cultura

O Papaya ringspot virus (PRSV), responsável pela doença conhecida como mancha anelar do mamão, representa uma ameaça significativa para o cultivo mundial da cultura. Este vírus pertence ao gênero *Potyvirus*, inserido na família Potyviridae (Premchand et al., 2023). O PRSV possui um genoma de RNA fita simples de sentido positivo, encapsulado por uma proteína de revestimento de 36 KDa. O genoma viral é composto por 10.326 nucleotídeos, incluindo uma cauda poli A, e contém um único quadro de leitura aberto (ORF) que se estende do nucleotídeo 86 ao 10.120, codificando uma poliproteína de 3.344 aminoácidos. Esta poliproteína é processada por três proteases virais para produzir todas as proteínas virais (Saleem et al., 2021).

O vírus possui duas variantes: uma que afeta tanto o mamoeiro quanto as cucurbitáceas, denominada PRSV-P, e outra que infecta exclusivamente as cucurbitáceas, chamada PRSV-W (Carvalho et al., 2022). Embora não possam ser diferenciados por testes sorológicos, as variantes PRSV-P e PRSV-W são distinguíveis por seus hospedeiros específicos (Wu et al., 2018) e são transmitidas por várias espécies de pulgões, por meio de um processo de transmissão rápida e superficial, sem que o vírus circule internamente no inseto. Eles se alimentam do mamoeiro infectado e, em seguida, transportam o vírus para plantas saudáveis. Além disso, o vírus pode ser eficientemente transmitido de plantas doentes para plantas sadias por transmissão mecânica, como enxertia de pequenos pedaços do pecíolo ou nervuras de plantas doentes, uso de ferramentas contaminadas e solos infectados (Gonsalves et al., 2010).

Os primeiros relatos dos sintomas do PRSV-P datam de 1949 no Havaí, quando foram identificados anéis concêntricos nos frutos e estrias oleosas nos pecíolos e partes jovens do tronco (Medina-Salguero et al., 2021). A infecção geralmente resulta na formação de manchas anelares nos frutos, mosaico, clorose nas folhas, distorção foliar, crescimento retardado, queda de flores e estrias oleosas à base de água nos pecíolos e na parte superior dos troncos jovens (Saleem et al., 2021).

A cultura do mamoeiro enfrenta diversos desafios, sendo o PRSV-P um dos mais devastadores. Este vírus tem o potencial de causar perdas totais na produção, chegando a 100%, e ainda resultar em perdas pós-colheita de 30% a 40% (Mendoza et al., 2008). No extremo Sul da Bahia, as viroses, incluindo a mancha anelar, foram identificadas como o maior problema da cultura do mamão por 75% dos produtores (Cruz Neto et al., 2017). O controle da mancha anelar do mamão apresenta desafios significativos. Nos estados do Espírito Santo e Bahia, a remoção sistemática de plantas infectadas tem se mostrado a estratégia mais eficaz para o controle da doença ao longo dos últimos 25 anos (Ventura et al., 2004). No entanto, em todos os lugares onde o PRSV-P foi detectado, há um consenso sobre seu impacto negativo na cultura do mamão, reduzindo a vida útil das plantas, a produção e a qualidade dos frutos. Como resultado, muitos produtores acabam desistindo do cultivo do mamão, como observado no estado de São Paulo, onde a área de plantio tem sido mínima há vários anos (Rezende et al., 2007).

A estratégia mais efetiva em escala global para prevenir e controlar o PRSV-P é o cultivo de variedades de mamão geneticamente modificadas que são resistentes ao vírus. A primeira variedade de mamão geneticamente modificada para resistência ao PRSV-P, que inclui o gene PRSV CP (Papaya ringspot virus coat protein), foi desenvolvida no Havaí (EUA) em 1998. As variedades 'SunUp' e 'Rainbow' demonstram uma resistência significativa aos isolados de PRSV-P do Havaí (Wu et al., 2018). No entanto, a resistência genética pode enfrentar desafios com a evolução do vírus, demandando constantes esforços para desenvolver novas variedades resistentes e estratégias de controle mais eficazes.

A introdução de lavouras geneticamente modificadas (GM) representa um marco na agricultura moderna, impulsionando a produtividade e a resistência das culturas. No entanto, essa inovação também gera preocupações sobre a segurança desses produtos, tanto para o meio ambiente quanto para a saúde humana. A manipulação genética de culturas, embora possa aumentar a produtividade e a resistência a pragas, também pode ter implicações desconhecidas para o ecossistema e a saúde humana (Costa et al., 2011). Assim, os métodos clássicos de melhoramento genético assumem um papel fundamental no desenvolvimento de cultivares com maior capacidade de defesa genética, oportunizando a disponibilização de um germoplasma com nível de tolerância ou resistência ao vírus.

3.4 Estudo de diversidade genética via marcadores moleculares

A análise da diversidade genética e da estrutura populacional desempenha um papel fundamental no melhoramento genético de plantas. A base genética dos seres vivos decorre da complexidade de seus genomas, nos quais mudanças como substituições, inserções, deleções e outras variações nos pares de bases contribuem para a variabilidade genética. Essa diversidade se manifesta em variações fenotípicas, genômicas, cromossômicas e proteômicas entre os organismos (Zhang et al., 2018).

Os marcadores moleculares permitem a investigação detalhada da variação genética presente nas plantas. Eles são essenciais na identificação de duplicatas dentro de coleções de germoplasma, auxiliando na formulação de estratégias eficazes para a conservação e utilização da variabilidade genética disponível. A eficácia dos marcadores baseados em DNA na avaliação da diversidade molecular e no estabelecimento de relações filogenéticas precisas entre espécies é amplamente reconhecida, especialmente quando comparada a métodos tradicionais baseados em características morfológicas, citológicas e bioquímicas (Mir et al., 2022).

O uso de marcadores de DNA representa uma alternativa eficiente em termos de tempo, esforço e custo. A análise da diferenciação genotípica por meio desses marcadores oferece maior confiabilidade em comparação com abordagens baseadas em características fisiológicas ou morfológicas. Além disso, os marcadores de DNA permitem a identificação e o rastreamento de características genéticas específicas, sendo particularmente úteis em programas de melhoramento genético (Hasibuzzaman et al., 2020). Isso possibilita uma seleção mais precisa de plantas com características desejáveis, otimizando a eficiência dos programas de melhoramento.

Entre os diversos tipos de marcadores moleculares, os microsatélites, também conhecidos como repetições de sequência simples (SSR), destacam-se por várias razões. Eles são amplamente distribuídos no genoma e fornecem um volume substancial de informações genéticas. Além disso, possuem herança codominante, permitindo a detecção de múltiplos alelos. Sua alta reprodutibilidade em experimentos sucessivos e a possibilidade de transferência entre espécies geneticamente próximas tornam-nos ferramentas valiosas para estudos genéticos.

Os marcadores *SSR* são amplamente aplicáveis, de fácil interpretação em análises de genotipagem, altamente automatizáveis e permitem múltiplas reações em uma única etapa de PCR (Loannidis et al., 2022).

Os marcadores *SSR* têm sido utilizados em diversos estudos voltados para a compreensão da diversidade genética, da estrutura populacional e da diferenciação entre variedades e espécies. Vidal et al. (2014) desenvolveram um atlas de marcadores *SSR* específicos para o mamão, composto por 160.318 *SSRs*, dos quais 21.231 estão localizados em regiões gênicas. Mendes (2017), em sua pesquisa, empregou os marcadores *SSR* desenvolvidos por Vidal et al. (2014) para analisar a firmeza do fruto, uma característica agrônômica de grande importância. Por meio da aplicação de *SSR-ESTs*, Mendes (2017) realizou uma análise genética que contribuiu significativamente para a compreensão da base genética associada à firmeza do fruto no mamoeiro. Esse estudo ressalta o papel dos marcadores *SSR* no avanço da pesquisa genética e no aprimoramento das culturas frutíferas.

A aplicação de marcadores moleculares tem o potencial de transformar os programas de melhoramento genético do mamoeiro, uma vez que possibilita uma seleção mais rápida e precisa. Essa técnica acelera significativamente o processo de seleção, permitindo a análise de um grande número de progênies em estágios iniciais de desenvolvimento. Além disso, o uso de marcadores moleculares pode aumentar os ganhos genéticos, tornando os programas de melhoramento mais eficientes e direcionados (Bohry et al., 2021).

Embora o cultivo de mamão esteja em expansão, a escassez de cultivares comerciais adaptadas a diferentes condições ambientais tem representado um desafio para a produção global. A diversidade genética limitada entre as cultivares selecionadas torna a espécie mais suscetível a infecções bacterianas e virais. Para facilitar a identificação e a seleção de genótipos com características desejáveis, como maior resistência a doenças, maior variabilidade genética e produtividade, tem-se recorrido à seleção assistida por marcadores moleculares (MAS), uma estratégia que vem se consolidando como uma ferramenta essencial para o melhoramento do mamoeiro (Vidal et al., 2014).

Dessa forma, a análise da diversidade genética e da estrutura populacional desempenha um papel crucial no avanço dos programas de melhoramento genético de plantas (Guimarães et al., 2019). O emprego de marcadores moleculares não apenas reduz o tempo necessário para o desenvolvimento de novas cultivares, como também aprimora a precisão da seleção, maximizando o potencial produtivo das espécies agrícolas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal setor de Genética Aplicada (LMGV/CCTA/UENF).

4.1 Material Vegetal

Foram analisados 96 acessos de *Carica papaya* L., avaliados quanto à resistência ao PRSV-P. Tais acessos foram divididos em dois grupos, sendo o primeiro composto por 44 acessos do Banco Ativo de Germoplasma da UENF/Caliman, que incluem materiais dioicos, ginodioicos-andromonoicos e linhagens endogâmicas desenvolvidos em parceria com a empresa Caliman Agrícola S.A (Tabela 1). Já o segundo grupo consistiu em 52 acessos genótipos dioicos e hermafroditas coletados em diferentes localidades das regiões do Norte e Noroeste do Rio de Janeiro, bem como do Noroeste e Sul do Espírito Santo (Tabela 2).

Tabela 1. Descrição dos acessos de *C. papaya* do Banco de Germoplasma UENF/Caliman.

Código Acessos	Grupos	Categoria	Origem
BAG01	Formosa	Linhagem endogâmica	Brasil
BAG02	Solo	Variedade	-
BAG03	Formosa	Linhagem endogâmica	Costa Rica
BAG04	Formosa	Linhagem endogâmica	-
BAG06	Formosa	Linhagem endogâmica	-
BAG07	Solo	Variedade	Brasil
BAG08	Solo	Linhagem endogâmica	Brasil
BAG12	Solo	Linhagem endogâmica	Hawaii-US
BAG13	Solo	Linhagem endogâmica	Hawaii-US
BAG14	Solo	Variedade	Brasil
BAG15	Solo	Variedade	Brasil
BAG16	Formosa	Linhagem endogâmica	-
BAG17	Solo	Linhagem endogâmica	Brasil
BAG19	Solo	Linhagem endogâmica	Brasil
BAG20	Formosa	Linhagem endogâmica	Hawaii-US
BAG23	Formosa	Variedade	Cuba
BAG25	Formosa	Linhagem endogâmica	-
BAG26	Solo	Linhagem endogâmica	Brasil
BAG28	Solo	Variedade	Brasil
BAG29	Formosa	Linhagem endogâmica	Brasil
BAG30	Formosa	Híbrido	Brasil
BAG31	Formosa	Linhagem endogâmica	Brasil
BAG32	Formosa	Dioico	US
BAG33	Formosa	Linhagem endogâmica	Brasil
BAG34	Formosa	Linhagem endogâmica	-
BAG36	Formosa	Linhagem endogâmica	Brasil
BAG39	Formosa	Linhagem endogâmica	Brasil
BAG43	Formosa	Linhagem endogâmica	Brasil
BAG45	Formosa	Linhagem endogâmica	Brasil
BAG46	-	-	-
BAG47	-	Dioico	-
BAG50	-	-	-
BAG52	Formosa	Linhagem endogâmica	-
BAG55	-	Segregante	-
BAG57	-	Segregante	-
BAG58	-	Dioico	-
BAG60	Formosa	Segregante	Brasil
BAG61	-	Linhagem endogâmica	Brasil
BAG62	-	Linhagem endogâmica	Brasil
BAG63	-	Linhagem endogâmica	Brasil
BAG66	Solo	Linhagem endogâmica	Brasil
BAG67	Formosa	Linhagem endogâmica	Brasil
BAG89	Solo	Linhagem endogâmica	-

(-) informação desconhecida

Tabela 2. Descrição e origem dos frutos dioicos e hermafroditas de *C. papaya* coletados em cidades das regiões Norte e Noroeste do Rio de Janeiro e Norte e Sul do Espírito Santo.

Código Acessos	Cidade	Região	UF	Tipo de fruto
UENF06-01	Pinheiros	Norte ES	ES	Dioico- Feminina
UENF06-02	Pinheiros	Norte ES	ES	Dioico- Feminina
UENF06-03	Pinheiros	Norte ES	ES	Dioico- Feminina
UENF06-04	Pinheiros	Norte ES	ES	Dioico- Feminina
UENF06-05	Pinheiros	Norte ES	ES	Dioico- Feminina
UENF04-01	Pinheiros	Norte ES	ES	Dioico- Feminina
UENF04-02	Pinheiros	Norte ES	ES	Dioico- Feminina
UENF04-05	Pinheiros	Norte ES	ES	Dioico- Feminina
UENF07-01	São João da Barra	Norte	RJ	Dioico- Feminina
UENF07-02	São João da Barra	Norte	RJ	Dioico- Feminina
UENF07-04	São João da Barra	Norte	RJ	Dioico- Feminina
UENF07-05	São João da Barra	Norte	RJ	Dioico- Feminina
UENF03-01	Muqui	Sul	ES	Dioico- Feminina
UENF03-02	Muqui	Sul	ES	Dioico- Feminina
UENF03-03	Muqui	Sul	ES	Dioico- Feminina
UENF03-05	Muqui	Sul	ES	Dioico- Feminina
UENF09-01	Itaocara- Jaguarambe	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF09-02	Itaocara- Jaguarambe	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF09-03	Itaocara- Jaguarambe	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF09-04	Itaocara- Jaguarambe	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF09-05	Itaocara- Jaguarambe	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF12-01	Ipituna- São Sebastião	Noroeste	RJ	Hermafrodita
UENF12-02	Ipituna- São Sebastião	Noroeste	RJ	Hermafrodita
UENF12-03	Ipituna- São Sebastião	Noroeste	RJ	Hermafrodita
UENF12-04	Ipituna- São Sebastião	Noroeste	RJ	Hermafrodita
UENF12-05	Ipituna- São Sebastião	Noroeste	RJ	Hermafrodita
UENF11-01	São Fidélis	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF11-02	São Fidélis	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF11-03	São Fidélis	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF11-04	São Fidélis	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF02-01	Cachoeiro de	Sul	ES	Dioico- Feminina
UENF02-02	Cachoeiro de	Sul	ES	Dioico- Feminina
UENF02-03	Cachoeiro de	Sul	ES	Dioico- Feminina
UENF02-04	Cachoeiro de	Sul	ES	Dioico- Feminina
UENF02-05	Cachoeiro de	Sul	ES	Dioico- Feminina

Tabela 2 – Cont.

Código Acessos	Cidade	Região	UF	Tipo de fruto
UENF08-01	Itaocara- Jaguarambe	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF08-02	Itaocara- Jaguarambe	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF08-03	Itaocara- Jaguarambe	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF08-04	Itaocara- Jaguarambe	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF08-05	Itaocara- Jaguarambe	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF10-02	São Fidélis –	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF10-03	São Fidélis –	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF10-04	São Fidélis –	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF05-02	Pinheiros	Norte ES	ES	Dioico- Feminina
UENF05-03	Pinheiros	Norte ES	ES	Dioico- Feminina
UENF05-04	Pinheiros	Norte ES	ES	Dioico- Feminina
UENF05-05	Pinheiros	Norte ES	ES	Dioico- Feminina
UENF12-14	Ipituna- São Sebastião	Noroeste	RJ	Hermafrodita
UENF09-09	Itaocara- Jaguarambe	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF09-15	Itaocara- Jaguarambe	Noroeste	RJ	Dioico- Feminina
UENF06-10	Pinheiros	Norte ES	ES	Dioico- Feminina
UENF06-15	Pinheiros	Norte ES	ES	Dioico- Feminina

4.2 Coleta do Material Vegetal

Folhas jovens foram coletadas dos 96 acessos de mamoeiro (tabela 1 e 2), cultivados em casa de vegetação da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). As plantas foram previamente inoculadas artificialmente por meio de inoculação mecânica do vírus, e a severidade da doença foi avaliada por meio do índice de doença (ID%), (Braga, 2024; Santos, 2024). Em seguida, foram encaminhadas ao Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (LMGV/CCTA/UENF) para análises posteriores.

4.3 Isolamento de DNA genômico

O DNA genômico total dos genótipos foi extraído a partir de aproximadamente 100 mg de folhas, seguindo o protocolo de extração descrito por

Doyle e Doyle (1990). A qualidade da extração foi avaliada por eletroforese em gel de agarose *Metaphor* a 1%, submetido a uma voltagem constante de 100 V, permitindo a análise do perfil eletroforético das bandas obtidas. A quantificação das amostras de DNA foi realizada por meio do software GelQuant. Posteriormente, as amostras foram diluídas até atingirem uma concentração final de 5 ng/μL.

4.4 Seleção dos *Primers*

Em mamoeiro, Vidal et al. (2014) desenvolveram e validaram um atlas de marcadores de repetição de sequência simples baseado em sequências expressas (*SSR-EST*), identificando 4.805 marcadores potencialmente associados à resistência a doenças. A partir desse conjunto, foram selecionados 50 *loci SSR-EST*, com foco específico naqueles relacionados à resistência a doenças. O critério de seleção dos *primers* consistiu em: 1º escolher *primers* representativos dos nove grupos de ligação; 2º eleger *primers* com descrições e funções biológicas associadas à resistência a doenças dentro desses grupos. Dentre os *loci* selecionados, 24 estão localizados em regiões de éxons e 26 em regiões de íntrons com mostra a tabela 3.

Tabela 3. Caracterização dos 50 *loci SSR-ESTs* relacionados à resistência a doenças, com os respectivos Grupos de Ligação (GL) e funções. Dados baseados no atlas de marcadores *SSR-ESTs* de Vidal et al. (2014).

Nº	SSR ID	Sequências dos iniciadores F/R	GL	Descrição
1	Cpa_SRR_015274	AGCACATGGAACGGAAGCA GCTGAACCTGGTTTTCTAGTCG	GL1	Produção de ta-siRNAs envolvidos na interferência de RNA processo metabólico resposta de defesa a vírus manutenção da metilação do DNA processo catabólico de ATP
2	Cpa_SRR_009329	CGGGAGGCCATATCTGTAAACA TCAGGTATTGGGGGAGACGA	GL1	Resposta ao vírus
3	Cpa_SRR_002164	TGCCCCAATTCTCCCAGGT GCAAATGAAGCAGCCTCTACC	GL2	Resposta a outro organismo
4	Cpa_SRR_012440	CGTAGGCCTCACGTTTCGAT ACCTCCGACCAATTCCTGT	GL2	Resposta de defesa transdução de sinal resposta imune inata
5	Cpa_SRR_016856	TGCCTGCCATGTTTTGACAG GCCTGCTTTGGTTGTTCTCA	GL3	Produção de ta-siRNAs envolvidos na interferência de RNA silenciamento de genes virais em silenciamento de genes induzido por vírus
6	Cpa_SRR_011759	TCTAATGTGGATGGTGGCTCA CCCTTCTTTTGCAGCAACCA	GL3	Propagação do vírus no hospedeiro processo metabólico patogênese
7	Cpa_SRR_014976	TCCTTCTTGTTTACCAAGTGCTG CGGGGAATGTACCAAGTGATT	GL3	Processo metabólico silenciamento genético induzido por vírus
8	Cpa_SRR_014948	TCAGAGGCAGTGTAGAGCA TGAACACGCACCCTCTGA	GL3	Silenciamento de genes por RNA produção de ta-sRNAs envolvidos na interferência de RNA silenciamento de genes induzido por vírus silenciamento de genes pós-transcricional produção de siRNA envolvido na interferência de RNA resposta de defesa ao vírus

Tabela 3. Cont.

Nº	SSR ID	Sequências dos iniciadores F/R	GL	Descrição
9	Cpa_SRR_008023	AGAGGCTGCAGAGGTTTTACT ACGTAAAGGACAGCAGCTTCA	GL3	Resposta ao vírus propagação do vírus no hospedeiro, célula a célula
10	Cpa_SRR_016033	GCAAGCTGGACAATGCCA GGAGCATGGATGGAATTGGC	GL3	Resposta de defesa ao vírus mudança de fase vegetativa produção de ta-siRNAs envolvidos na interferência de RNA silenciamento gênico induzido por vírus
11	Cpa_SRR_018508	TGACCAGCCTTTCTTCATTGC ACAAGGCTGAAGAGGTTGCT	GL4	Resposta imune inata transdução de sinal resposta de defesa
12	Cpa_SRR_018778	GGTCGCTATCCCACAAAAGC GGCTGATATGGGTGCAGGA	GL4	Resposta ao íon cádmio regulação negativa da germinação de sementes resposta de defesa ao fungo resposta de defesa à bactéria resposta ao calor resposta ao frio resposta ao vírus dobramento de proteínas
13	Cpa_SRR_010131	AGTTGGCCGGAGAGAGAAGA TCCAGGGAGCAAATCAGTACC	GL4	Resposta ao vírus
14	Cpa_SRR_015405	AGGTTTGATCACGGCAGCA ACATGCCTGGCCTTTCTGA	GL4	Resposta de defesa
15	Cpa_SRR_007616	TTGCATGGGAGGCGAGAA CCAAACATGGATTTTCGTGGT	GL5	Desenvolvimento foliar resposta ao vírus fosforilação
16	Cpa_SRR_010483	TGGGCTGTTGAGTCTTTGCT AGCAGAGCTCAGGAGGAAGA	GL5	Vírus silenciamento gênico induzido produção de siRNA envolvido na interferência de RNA

Tabela 3. Cont.

Nº	SSR ID	Sequências dos iniciadores F/R	GL	Descrição
17	Cpa_SRR_005102	AGCGGATTCTTGGAGGCT TGCCTGTTTCCGGTATCCAG	GL5	Resposta de defesa
18	Cpa_SRR_005096	ACGGGGATTTGCGCAGAA TCCTCCGCATTACAACCG	GL5	Processo catabólico de ATP Reprodução viral processo metabólico interação vírus-hospedeiro
19	Cpa_SRR_005097	GCTTACTCTGAAGGGTATCACACA TGCGGTGGTCTTGCAACA	GL5	Processo catabólico de ATP reprodução viral processo metabólico interação vírus-hospedeiro
20	Cpa_SRR_003287	AAATGGACCGGCTGAGCA AGGCTGGTATCAAAAGGGTGA	GL5	Resposta ao ferimento resposta ao estímulo do ácido salicílico resposta de defesa à bactéria regulação da resposta de defesa ao vírus pelo hospedeiro resposta de defesa ao fungo regulação da resposta de defesa
21	Cpa_SRR_008609	TGCACCCGTTCCAACAGA ATAGAGAGCAGCGAACAGATC	GL6	Iniciação translacional resposta ao vírus regulação negativa da resposta de defesa ao vírus
22	Cpa_SRR_009841	CTGCCCCTTCACCGACAAT GCCCTCCCTGAGCATTGTT	GL6	Resposta ao estímulo do ácido abscísico iniciação da tradução resposta ao vírus
23	Cpa_SRR_004600	AGTTGAGGGAAGGCAGGA TGAAGCCTTGCAACCACCT	GL6	Resposta de defesa
24	Cpa_SRR_013034	GGTGATTTGGCGAGTAGTGAC GCACCCGCCTTCCTAACT	GL6	Propagação do vírus no hospedeiro transporte intercelular mediado por plasmodesmos

Tabela 3. Cont.

Nº	SSR ID	Sequências dos iniciadores F/R	GL	Descrição
25	Cpa_SRR_013032	TGGCACAGCTAGGTTGAAACA GGTGGCCCTGAAAGTGTGT	GL6	Transdução de sinal resposta imune inata
26	Cpa_SRR_019352	TGGAAACTTCTGCTGCACCT GCTCAAAGTGGTGGGAAATGT	GL7	Silenciamento gênico induzido por vírus resposta de defesa ao vírus mudança de fase vegetativa processamento de RNA produção de siRNA envolvido na interferência de RNA manutenção da metilação do DNA
27	Cpa_SRR_006510	CGACTCTCTGCAACTCCGA AGTGCAAACCCCAGCCAT	GL7	Resposta imune inata transdução de sinal resposta de defesa
28	Cpa_SRR_008840	TGATTGTGCCCTATCCTCTGG GCCCGACAATCTCCAGCAT	GL7	Desfosforilação processo metabólico regulação da resposta de defesa ao vírus
29	Cpa_SRR_013620	ATCGTGTGTGGCGTTCGA TTGGAAGCCGGAGAAGGT	GL7	Secreção pela célula regulação da exportação de aminoácidos interação vírus-hospedeiro resposta ao vírus
30	Cpa_SRR_006625	TGCAGACAAGGGTTCCATCTC GGATTGCTGCTCAGTTGCC	GL7	Resposta de defesa
31	Cpa_SRR_005928	AGCAAAGAGATGGGAATCTGCA TGCCTGCCAAACCCAACT	GL7	Transporte nucleocitoplasmático processo catabólico GTP resposta ao vírus
32	Cpa_SRR_006562	ACACCGTCGGAGTCACAT TCGCCCAATCCCTGCATT	GL7	Transdução de sinal resposta imune inata

Tabela 3. Cont.

Nº	SSR ID	Sequências dos iniciadores F/R	GL	Descrição
33	Cpa_SRR_015515	CACTGATTGGCGAGCTGGA AGGGTTTTATCTTTGGGGTGAGT	GL7	Resposta ao ferimento resposta ao estímulo do ácido salicílico regulação da transcrição, dependente de DNA resposta à quitina resposta de defesa à bactéria regulação da resposta de defesa ao vírus pelo hospedeiro resposta de defesa ao fungo regulação da resposta de defesa
34	Cpa_SRR_015518	ACCCTACCAGCTCTCTCATCA TGTACATTTGGGGCGCAA	GL7	Resposta ao ferimento resposta ao estímulo do ácido salicílico regulação da transcrição, dependente de DNA resposta à quitina resposta de defesa à bactéria regulação da resposta de defesa ao vírus pelo hospedeiro resposta de defesa ao fungo regulação da resposta de defesa
35	Cpa_SRR_001459	GTTTAGCCCCGCAAAGAGG CGGCTTTCACTCTATCGACCT	GL8	Transdução de sinal resposta de defesa resposta imune inata
36	Cpa_SRR_001462	CAGTTCCATCTGCAAGAAGTACT TCCGGAGCCCTGATCTTGA	GL8	Resposta imune inata transdução de sinal resposta de defesa
37	Cpa_SRR_001097	AGCATGATGAAATTTTCGGCTCA TCCCCAATTTGAGAATCCCACT	GL8	Organização dos microtúbulos corticais resposta à privação de água resposta de defesa ao vírus padronização do complexo estomático transporte intercelular mediado por plasmodesmos
38	Cpa_SRR_015928	TGGCGGTGGTCATAGAGGT TATGGCGGCACTGGAACTC	GL9	Resposta de defesa ao vírus

Tabela 3. Cont.

Nº	SSR ID	Sequências dos iniciadores F/R	GL	Descrição
39	Cpa_SRR_000704	ACTTTTCCTCCTCAAACGAGTCT AAAAGCTGTGGGGTCCGT	GL9	Resposta imune inata transdução de sinal resposta de defesa
40	Cpa_SRR_000705	GGTGCACGTGTTGTTGACC GGCAGATGATGAAATAAACGCTG T	GL9	Resposta imune inata transdução de sinal resposta de defesa
41	Cpa_SRR_000706	TGTTCTTGTTCTTGCTCCACAG AAGCTGTGGGGTTCGTCT	GL9	Resposta imune inata transdução de sinal resposta de defesa
42	Cpa_SRR_000407	GGAATGCCAGACAGCTCGA CCTACGGAGCTGCAGTTCA	GL9	Fechamento estomático resposta ao íon cádmio regulação negativa da germinação de sementes resposta de defesa ao fungo resposta de defesa à bactéria resposta ao calor resposta ao frio resposta ao vírus dobramento de proteínas
43	Cpa_SRR_008969	AGGTGAGAAGCTCTGCATGA CCTTCCTAATGATCTCTCTGTTCT	GL9	Processo metabólico de auxina silenciamento gênico induzido por vírus resposta à luz vermelha distante silenciamento gênico por miRNA
44	Cpa_SRR_018215	CACATGTCCTGCAACGAATT GGTTAGCCTGAGTCGGTAATC	UN	Resposta ao vírus desenvolvimento do carpelo desenvolvimento das flores regulação da reprodução viral processamento de mRNA desenvolvimento das folhas
45	Cpa_SRR_020049	ACTTGGTAGACAGTTATAAAGCTGT CCATCCAGGCTTGTGACCA	UN	Desenvolvimento foliar morfogênese dos tricomas regulação da reprodução viral resposta ao vírus desenvolvimento das flores fosforilação de proteínas regulação do ciclo celular

Tabela 3. Cont.

Nº	SSR ID	Sequências dos iniciadores F/R	GL	Descrição
46	Cpa_SRR_021132	TGGACTGAAGTGGCTAGTTGG AGAGCGACAATTTCCCCAGT	UN	Desfosforilação processo metabólico regulação da resposta de defesa ao vírus
47	Cpa_SRR_019902	AGATGTTGATGGCGGGGTT TGGGAGCAACAAGAAGCAT	UN	Resposta ao vírus dobramento de proteínas resposta ao íon cádmio resposta ao calor resposta ao estresse salino
48	Cpa_SRR_020161	GGCAGGACAAACACACAGC CCCTAAACAACATTGGCCGAT	UN	Processo metabólico resposta de defesa
49	Cpa_SRR_019658	GCTCCTTAGATCCCAAGAGCA GCCAACGCTTCCAAGTTTTG	UN	Processo metabólico de auxina silenciamento gênico induzido por vírus silenciamento gênico por miRNA resposta imune inata silenciamento gênico pós-transcricional interferência de RNA
50	Cpa_SRR_020885	ACCGGAGACATCGGACAGT CCCAATCTTACACACACAAGGG	UN	Produção de ta-siRNAs envolvidos na interferência de RNA resposta de defesa a vírus manutenção da metilação do DNA processo catabólico de ATP

4.5 Análises moleculares via PCR

As reações de PCR foram realizadas utilizando o termociclador *Eppendorf Applied Biosystems/Veriti 96 well*, que foi configurado para efetuar 35 ciclos, obedecendo às seguintes temperaturas e tempos: desnaturação inicial de 94°C durante 5 minutos; 94°C por 1 minuto, (desnaturação cíclica); 56°C por 1 minuto (anelamento); 72°C por 2 minutos (extensão cíclica); 72°C por 7 minutos (extensão final); e resfriado 4°C. O volume final foi de 13 µL contendo 2 µL de DNA (10 ng/µL), 1X de Buffer, 0,2 mM de dNTPs, 1,9 mM de MgCl₂, 0,19 µM de cada *primer*, 0,75 U de Taq DNA polimerase.

Antes das análises nas 96 amostras, os *primers SSR-ESTs* foram submetidos a uma triagem para verificar o nível de polimorfismo. Para tanto, foram utilizados seis genótipos de mamoeiro, sendo cinco provenientes do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da UENF/Caliman: Cariflora (BAG PL1-G32), São Mateus (BAG PL1-G17), Kapoho (BAG PL1-G13), Golden tipo Formosa (BAG PL1-G33) e JS12 (BAG PL1-G31). Além desses, foi incluído um material silvestre dioico, coletado em Itaocara - Jaguarambe/RJ (UENF09-10). As amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose *Metaphor* 4% em tampão de corrida TAE 1X. Cada amostra foi composta por 10 µL do produto da PCR, 3 µL de GelRed e 3 µL de BlueJuice. Utilizou-se também o marcador DNA *Ladder* com uma variação de 35 a 450 pb durante as corridas para determinar o tamanho dos fragmentos amplificados. Posteriormente, os géis foram visualizados sob luz ultravioleta, e as imagens foram capturadas pelo sistema MiniBis Pro de fotodocumentação. Com base nos resultados, foram selecionados os *loci* mais informativos para amplificação por PCR nos 96 acessos de mamoeiro.

Com base nos resultados obtidos na eletroforese em gel de agarose, os *loci SSR-EST* selecionados foram analisados nas 96 amostras e submetidos à eletroforese capilar. Os produtos da amplificação foram diluídos numa relação de 8 µL de amostra para 16 µL de Buffer E do kit DNF 900 em placas de 96 poços, e submetidos à eletroforese capilar (*Fragment Analyzer*). A qual foi conduzida sob uma corrente elétrica de 7,5 kW por 140 minutos, utilizando marcadores de fragmentos de 1 pb e 500 pb como referência.

4.6 Análise Estatística

Os resultados da amplificação dos iniciadores *SSR* foram transformados em um código numérico, no qual cada alelo por *locus* recebeu um valor único. Esse processo resultou em uma matriz numérica, na qual os valores foram atribuídos de 1 até o número máximo de alelos presentes no *locus*, conforme o exemplo a seguir: para um *locus* que apresentou três alelos, a representação foi 11, 22 e 33 para as formas homozigotas (A1A1, A2A2 e A3A3) e 12, 13 e 23 para as heterozigotas (A1A2, A1A3 e A2A3).

A partir dessa matriz, foi calculada a distância genética entre os genótipos estudados, com o auxílio do programa GENES (Cruz, 2008). A análise de agrupamento dos genótipos, representada por meio de um dendrograma, foi realizada pelo método hierárquico UPGMA (Saitou e Nei, 1987), utilizando os coeficientes de Smouse e Peakall (1999) para estimar a dissimilaridade. A matriz de dissimilaridade genética obtida foi, então, submetida à análise de agrupamento pelo método UPGMA. O programa PowerMarker versão 3.25 (Liu e Muse, 2005) foi utilizado para estimar medidas de diversidade: número de alelos por *locus* (NA), heterozigosidade esperada (HE), heterozigosidade observada (HO), índice de conteúdo polimórfico (PIC) e coeficiente de endogamia (F).

A heterozigosidade esperada foi determinada pela seguinte expressão:

$$HE = 1 - \sum_{i=1}^k X_i^2$$

em que:

X_i : frequência do alelo i ;

K : número de alelos.

Já a heterozigosidade observada foi estimada pela expressão:

$$Ho = \frac{\sum_{j=1, j \neq 1}^a n_{ij}}{n}$$

em que:

N_{ij} : número de heterozigotos em cada *locus*;

N : total de indivíduos estudados.

O Índice de Conteúdo Polimórfico foi calculado pela seguinte expressão:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^a p_i^2 - \sum_{i,j=1}^a \sum_{(i \neq j)} p_i^2 p_j^2$$

em que:

$\sum_i p_i^2$: informatividade do *primer*;

$\sum \sum p_i^2 p_j^2$: frequência do alelo *p* no *primer j*.

O índice de fixação estima o coeficiente médio de endogamia e pode ser determinado pela seguinte expressão:

$$F = 1 - \frac{H_E}{H_O}$$

em que:

H_O : frequência observada de heterozigotos;

H_E : frequência esperada de heterozigotos.

4.6.1 Análise da estrutura da população

Para analisar a estrutura populacional dos 96 genótipos de mamoeiro, utilizou-se o software STRUCTURE (versão 2.3.4) com um modelo bayesiano "no admixture" e frequências alélicas independentes. Foram realizadas 100.000 iterações iniciais ("Burning Period") seguidas de 100.000 repetições de MCMC. Dez simulações independentes foram executadas, com K variando de 1 a 6. O número ótimo de *clusters* (K) foi determinado pelo método de Evanno et al. (2005), utilizando o Structure Harvester para calcular o ΔK . Após identificar o K ideal, selecionou-se a simulação com o menor valor de $\ln P(D)$. No gráfico gerado, cada cor representa um grupo geneticamente estruturado.

A associação genótipo-fenótipo foi verificada pela análise das médias fenotípicas separadas para cada uma das classes genotípicas 11, 22, 12 etc. Os dados foram plotados em gráficos *Boxplot*, os quais foram obtidos utilizando o programa R.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Screening de 50 loci SSR-ESTs

Para a identificação de *loci* SSR-ESTs polimórficos, foram analisados 50 pares de *primers* SSR-EST (Figura 1). A análise das imagens dos géis de agarose revelou que, dos 50 *loci* selecionados, 12 apresentaram polimorfismo, exibindo padrões de bandas claramente distinguíveis, 16 *loci* foram considerados monomórficos, 10 *loci* não forneceram resultados conclusivos e necessitam de otimização das condições de amplificação para garantir uma análise mais precisa e confiável. Além disso, outros 12 *loci* mostraram evidências de polimorfismo, porém com resolução menos definida nos géis de agarose *Metaphor*, indicando que seriam mais adequados para análise por eletroforese capilar, devido à maior capacidade de resolução do sistema capilar.

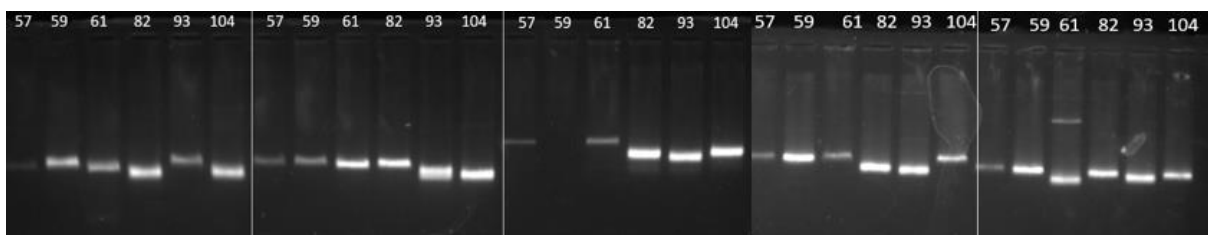


Figura 1. Análise eletroforética dos produtos de amplificação do DNA referentes ao *screening* de seis acessos de mamoeiro sendo: 57. BAG14; 59. BAG13; 61. BAG33; 82. BAG32; 93. BAG 31; 104. UENF09-10.

Esses resultados indicam a viabilidade de utilização de parte dos *loci SSR-ESTs* analisados para estudos de diversidade genética, enquanto outros demandam ajustes metodológicos para futuras aplicações. Dos 50 *loci* selecionados, 28 amplificaram de maneira satisfatória, sendo que 12 apresentaram polimorfismo claramente distinguível, resultando em um percentual de polimorfismo de aproximadamente 42%. Esse índice é satisfatório, considerando a natureza dos marcadores *SSR-ESTs*, que estão associados a regiões transcritas do genoma e, portanto, podem apresentar uma variabilidade genética moderada.

5.2 Análise descritiva dos *loci SSR-EST*

A análise de nove *loci* de *SSR-ESTs* em acessos de mamoeiro revelou um total de 24 alelos, com variação de 2 a 5 alelos por *locus* e média de 2,67. Esses valores são inferiores aos relatados por Oliveira et al. (2010), que encontraram média de 4,02 alelos por *locus* ao analisar 30 acessos de mamoeiro com 59 marcadores *SSR* genômicos, e por Matos et al. (2013), que observaram variação de 3 a 10 alelos por *loci* (média de 4,53) em 96 acessos. A menor variabilidade alélica neste estudo pode ser atribuída ao uso de *SSR-ESTs*, derivados de regiões transcritas do genoma e mais conservados funcionalmente, em contraste com os *SSR* genômicos utilizados nos trabalhos anteriores.

A heterozigosidade observada (H_o) média foi de 0,17, indicando uma baixa frequência de indivíduos heterozigotos no conjunto de acessos analisado. A fixação de alelos foi evidente em três *loci* (Cpa_SRR_015515, Cpa_SRR_013032 e Cpa_SRR_010483), os quais apresentaram H_o igual a zero, evidenciando ausência de heterozigotos entre os genótipos avaliados. Esse padrão pode ser resultado da seleção de linhagens autopolinizadas ou da manutenção de acessos geneticamente similares. Por outro lado, o *locus* Cpa_SRR_010131 apresentou H_o 0,76, sugerindo alta variabilidade genética local, possivelmente influenciada por fluxo gênico recente ou seleção que favoreça a heterozigosidade.

O índice de fixação (F) variou de -0,58 a 1,00, com média de 0,45, indicando predominância de endogamia entre os acessos de mamoeiro analisados. Três *loci* apresentaram $F=1,00$, refletindo homozigose completa, enquanto outros dois exibiram altos níveis de endogamia ($F > 0,70$), mas com alguma heterozigosidade residual. O *locus* Cpa_SRR_010131 destacou-se com F negativo (-0,58), sugerindo

excesso de heterozigotos, possivelmente devido ao fluxo gênico ou seleção. Esses resultados evidenciam um conjunto predominantemente endogâmico, mas com variabilidade genética em alguns *loci*.

O conteúdo de polimorfismo (PIC) médio foi de 0,26, indicando baixa capacidade discriminatória geral dos marcadores analisados. Os nove *loci* apresentaram PIC entre 0,04 e 0,52, sendo considerados pouco informativos (Cpa_SRR_015515, Cpa_SRR_019658, Cpa_SRR_010483, Cpa_SRR_021132 e Cpa_SRR_019352) moderadamente informativos (Cpa_SRR_013032, Cpa_SRR_010131, Cpa_SRR_020049) ou altamente informativo (Cpa_SRR_018215), segundo critério de Botstein et al. (1980). Esses resultados evidenciam a existência de variabilidade genética entre os acessos analisados, reforçando a utilidade dos marcadores *SSR-ESTs* selecionados para estudos de diversidade genética em mamoeiro. Apesar do baixo polimorfismo médio observado, a identificação de *loci* moderadamente e altamente informativos (como Cpa_SRR_018215) sugere que esses marcadores podem ser valiosos para aplicações em melhoramento genético, conservação de germoplasma e caracterização de populações, desde que utilizados em conjunto com outras abordagens complementares.

Tabela 4. Medidas de diversidade para os 9 *loci SSR-EST* analisados nos 96 acessos de mamoeiro.

<i>Loci</i>	N.A	He	Ho	PIC	F
Cpa_SRR_015515	2,00	0,04	0,00	0,04	1,00
Cpa_SRR_013032	2,00	0,43	0,00	0,34	1,00
Cpa_SRR_019658	2,00	0,17	0,10	0,15	0,42
Cpa_SRR_010131	2,00	0,48	0,76	0,37	-0,58
Cpa_SRR_018215	5,00	0,6	0,17	0,52	0,72
Cpa_SRR_010483	4,00	0,2	0,00	0,19	1,00
Cpa_SRR_020049	2,00	0,49	0,29	0,37	0,40
Cpa_SRR_021132	2,00	0,12	0,02	0,11	0,82
Cpa_SRR_019352	3,00	0,27	0,20	0,24	0,25
Médias	2,67	0,31	0,17	0,26	0,45

NA: número de alelos; **He:** heterozigosidade esperada; **Ho:** heterozigosidade observada; e **PIC:** índice de conteúdo polimórfico.

5.3 Análise de diversidade dos genótipos

A análise das medidas de diversidade genética dos 52 acessos de mamoeiro prospectados (Tabela 5) revelou uma heterozigosidade esperada (H_e) variando entre 0,28 e 0,66, com média de 0,49. A heterozigosidade observada (H_o) oscilou entre 0,00 e 0,44, com média de 0,23. A diferença entre os valores médios de H_e e H_o evidencia um déficit de heterozigotos em relação ao esperado sob equilíbrio de Hardy-Weinberg, indicando uma tendência à homozigosidade na população analisada. Essa discrepância pode estar associada a fatores como seleção artificial, deriva genética, estruturação populacional ou endogamia.

O coeficiente médio de endogamia (F) foi de 0,56, refletindo um nível moderadamente elevado de homozigose nos acessos prospectados. De acordo com Peakall & Smouse (2012), valores de F próximos de zero indicam cruzamento ao acaso, valores negativos sugerem excesso de heterozigosidade, e valores positivos elevados revelam a ocorrência de endogamia. A média obtida reforça a hipótese de que, mesmo entre materiais prospectados diretamente em campo, houve influência de cruzamentos não aleatórios ou eventos de isolamento reprodutivo, contribuindo para a homogeneização genética de certos acessos.

Tabela 5. Medidas de diversidade genética para os 52 acessos de mamoeiro prospectados obtidos através da análise de 9 *loci* SSR-EST.

Genótipos	H_e	H_o	F
UENF06-01	0,44	0,22	0,54
UENF06-02	0,43	0,13	0,74
UENF06-03	0,40	0,11	0,75
UENF06-04	0,54	0,11	0,81
UENF06-05	0,54	0,11	0,81
UENF04-01	0,57	0,22	0,64
UENF04-02	0,57	0,22	0,64
UENF04-05	0,57	0,22	0,64
UENF07-01	0,51	0,33	0,40
UENF07-02	0,51	0,33	0,4
UENF07-04	0,57	0,44	0,28
UENF07-05	0,57	0,44	0,28
UENF03-01	0,66	0,44	0,38
UENF03-02	0,40	0,11	0,75

Tabela 5. – Cont.

Genótipos	HE	HO	F
UENF03-03	0,44	0,22	0,54
UENF03-05	0,48	0,22	0,57
UENF09-01	0,48	0,22	0,57
UENF09-02	0,48	0,33	0,35
UENF09-03	0,51	0,33	0,40
UENF09-04	0,51	0,33	0,40
UENF09-05	0,57	0,44	0,28
UENF12-01	0,51	0,33	0,40
UENF12-02	0,48	0,11	0,79
UENF12-03	0,54	0,11	0,81
UENF12-04	0,51	0,33	0,40
UENF12-05	0,59	0,33	0,48
UENF11-01	0,59	0,33	0,48
UENF11-02	0,48	0,22	0,57
UENF11-03	0,66	0,44	0,38
UENF11-04	0,48	0,22	0,57
UENF02-01	0,48	0,11	0,79
UENF02-02	0,54	0,22	0,62
UENF02-03	0,44	0,22	0,54
UENF02-04	0,48	0,11	0,79
UENF02-05	0,44	0,22	0,54
UENF08-01	0,44	0,22	0,54
UENF08-02	0,54	0,22	0,62
UENF08-03	0,44	0,22	0,54
UENF08-04	0,48	0,22	0,57
UENF08-05	0,44	0,22	0,54
UENF10-02	0,35	0,00	1,00
UENF10-03	0,36	0,22	0,44
UENF10-04	0,51	0,25	0,56
UENF05-02	0,59	0,33	0,48
UENF05-03	0,40	0,33	0,23
UENF05-04	0,54	0,11	0,81
UENF05-05	0,28	0,11	0,64
UENF12-14	0,48	0,22	0,57
UENF09-09	0,54	0,22	0,62
UENF09-15	0,49	0,29	0,48
UENF06-10	0,49	0,22	0,59
UENF06-15	0,57	0,22	0,64
MÉDIAS	0.49	0.23	0.56

Heterozigosidade esperada (**He**), a Heterozigosidade observada (**HO**) e o Coeficiente de endogamia (**F**).

Nos 44 acessos do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da UENF/Caliman (Tabela 6), a heterozigosidade esperada (H_e) variou de 0,20 a 0,61, com média de 0,50, valor semelhante ao observado nos acessos prospectados. No entanto, a heterozigosidade observada (H_o) foi consideravelmente inferior, variando de 0,00 a 0,33, com média de apenas 0,07. A diferença acentuada entre H_e e H_o evidencia um forte déficit de heterozigotos, indicando uma predominância de homozigose nos acessos mantidos no banco.

O coeficiente médio de endogamia (F) foi de 0,87, valor elevado que revela a ocorrência significativa de endogamia. Conforme destacado por Peakall & Smouse (2012), esse nível de F sugere reprodução restrita ou dirigida, como é comum em materiais conservados e manipulados geneticamente. A presença de diversos acessos com F igual a 1,00, ou seja, sem nenhum heterozigoto detectado nos *loci* avaliados, confirma esse padrão.

Em linhagens submetidas a ciclos de autofecundação, é esperado que a heterozigosidade observada diminua progressivamente a cada geração, devido ao aumento do nível de homozigose (Rahimi et al., 2023). Esse processo pode explicar os baixos valores de H_o verificados em diversos acessos do Banco de Germoplasma da UENF/Caliman, os quais foram submetidos a manipulações genéticas mais controladas, incluindo possíveis ciclos de autopolinização ou seleção dirigida. Essa redução na heterozigosidade é um indicativo de fixação gênica, comum em materiais que passam por programas de melhoramento.

A estimativa da heterozigosidade esperada (H_e) e observada (H_o) é fundamental para a compreensão da diversidade genética de uma população, pois fornece uma visão mais completa sobre a estrutura genética e os níveis de variabilidade efetivamente disponíveis. Mesmo em acessos com altos valores de H_e , a baixa H_o sugere que a variabilidade alélica potencial não está sendo plenamente expressa, o que pode limitar o potencial adaptativo da população e reduzir a eficiência de programas de melhoramento que dependem de variabilidade genética. Futuros estudos podem aprofundar a investigação da interação entre genótipos dioicos e hermafroditas e seu impacto na diversidade genética.

Tabela 6. Medidas de diversidade genética para os 44 acessos de mamoeiro do Banco Ativo de Germoplasma UENF/Caliman obtidos através da análise de 9 *loci* SSR-EST

Genótipos	HE	HO	F
BAG17	0,59	0,11	0,83
BAG20	0,59	0,33	0,48
BAG13	0,54	0,22	0,63
BAG08	0,54	0,11	0,81
BAG33	0,54	0,11	0,81
BAG63	0,59	0,11	0,83
BAG07	0,59	0,11	0,83
BAG26	0,46	0,14	0,73
BAG34	0,53	0,00	1,00
BAG14	0,48	0,13	0,77
BAG16	0,61	0,00	1,00
BAG02	0,57	0,13	0,81
BAG15	0,44	0,11	0,77
BAG12	0,54	0,11	0,81
BAG06	0,54	0,11	0,81
BAG04	0,44	0,11	0,77
BAG47	0,30	0,13	0,63
BAG65	0,53	0,00	1,00
BAG66	0,44	0,00	1,00
BAG58	0,57	0,00	1,00
BAG55	0,57	0,00	1,00
BAG60	0,57	0,00	1,00
BAG52	0,57	0,00	1,00
BAG61	0,49	0,13	0,77
BAG50	0,57	0,00	1,00
BAG32	0,59	0,00	1,00
BAG62	0,57	0,00	1,00
BAG45	0,35	0,00	1,00
BAG64	0,57	0,00	1,00
BAG57	0,49	0,00	1,00
BAG25	0,49	0,00	1,00
BAG43	0,20	0,00	1,00
BAG29	0,49	0,00	1,00
BAG30	0,59	0,22	0,66
BAG28	0,57	0,00	1,00
BAG19	0,44	0,00	1,00
BAG31	0,59	0,00	1,00
BAG23	0,40	0,11	0,75
BAG39	0,44	0,00	1,00
BAG36	0,22	0,00	1,00
BAG67	0,57	0,33	0,47
BAG46	0,57	0,13	0,81
BAG18	0,48	0,11	0,79
BAG03	0,54	0,11	0,81
MÉDIAS	0.50	0.07	0.87

Heterozigosidade esperada (**He**), a Heterozigosidade observada (**HO**) e o Coeficiente de endogamia (**F**).

A análise do dendrograma de similaridade genética permitiu a identificação de sete grupos distintos entre os genótipos avaliados (Figura 2). O alto valor do coeficiente de correlação cofenética ($CCC = 0,88$) confirma a robustez do dendrograma e a representatividade da matriz de distância utilizada, validando a confiabilidade dos agrupamentos formados. Os grupos 1, 2, 4 e 6 foram formados por apenas um acesso cada (BAG26, UENF09-15, BAG16 e BAG66, respectivamente), indicando alta divergência genética desses materiais em relação aos demais. Essa individualidade genética sugere que esses acessos podem representar fontes importantes de variabilidade para programas de melhoramento, principalmente em estratégias que visem ampliar a base genética cultivada. Os grupos 3 e 5, compostos por três acessos cada, indicam a presença de genótipos com elevada similaridade genética entre si, possivelmente devido a uma origem comum, história de seleção semelhante ou manutenção sob condições semelhantes de conservação. A compactação desses grupos reflete proximidade genotípica relevante e pode auxiliar na identificação de linhagens redundantes ou na seleção de representantes centrais para uso em cruzamentos estratégicos.

Reunindo o maior número de genótipos, o grupo 7 compreende 86 dos 96 acessos (89,6% do total), sugerindo que a maioria deles compartilha sequências genômicas semelhantes para os 9 *loci* analisados. No entanto, é importante ressaltar que esses resultados não podem ser extrapolados para o genoma inteiro, uma vez que a diversidade observada está restrita às regiões estudadas. Estudos futuros, com uma abordagem genômica mais ampla, são necessários para confirmar se esse padrão de similaridade genética se mantém em outras regiões do genoma e para identificar possíveis áreas de divergência que não foram acessadas nesta análise.

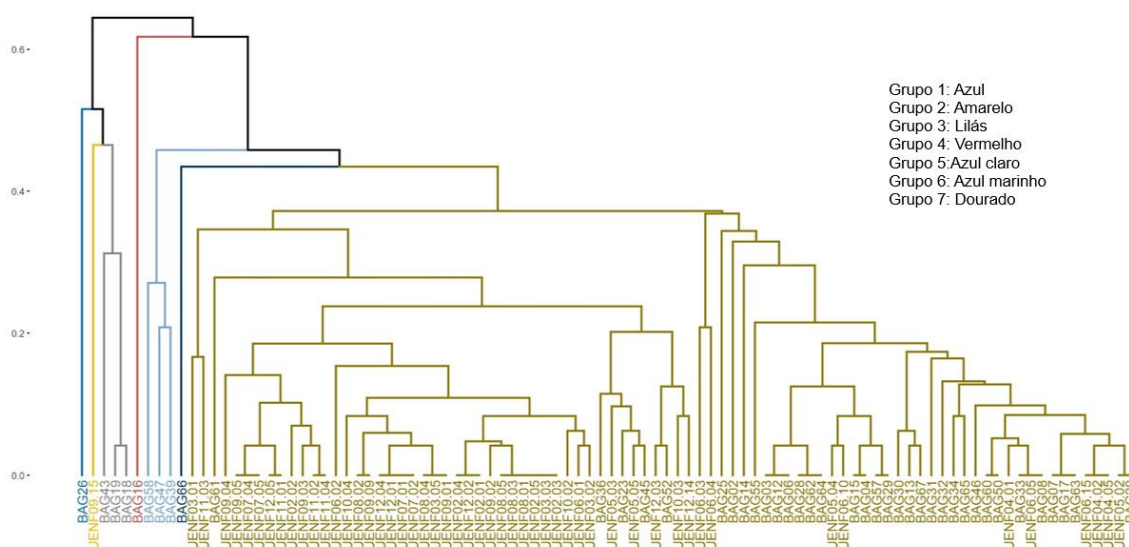


Figura 2. Dendrograma gerado a partir da metodologia UPGMA com base na análise de 96 genótipos de mamoeiro e 9 *loci* relacionados à resistência a doença.

A análise do dendrograma obtido com base nos 52 genótipos prospectados (Figura 3) revelou a formação de três grupos principais: o Grupo 1 (azul), formado por um único genótipo (UENF09.15), o Grupo 2 (amarelo), composto por dois genótipos (UENF03.01 e UENF11.03), e o Grupo 3 (cinza), que abrange a maior parte dos acessos analisados. A formação de grupos tão assimétricos, com predomínio de genótipos concentrados em um único grupo (Grupo 3), sugere que a maioria dos genótipos dioicos compartilha alta similaridade genética nos *loci* avaliados. Considerando que muitos desses acessos prospectados têm origem em regiões geograficamente próximas, como o Noroeste e Norte Fluminense (RJ) e o Norte e Sul do Espírito Santo, possivelmente essa proximidade esteja associada a uma base genética comum, resultante de cruzamentos não controlados ou efeitos de domesticação que levaram à fixação de alelos comuns.

Embora esses 52 acessos tenham sido coletados em diferentes localidades e sob pouca ou nenhuma informação prévia, os resultados obtidos revelam uma diversidade genética relativamente baixa entre a maioria deles. Tal padrão pode estar relacionado a uma limitação da variabilidade nas regiões genômicas analisadas, mas também pode refletir um cenário mais amplo de erosão genética em populações silvestres. De acordo com Salgotra e Chauhan (2023), a diversidade genética das populações selvagens tem diminuído globalmente ao longo do último século, como resultado da fragmentação de habitats, alterações

climáticas, redução das áreas geográficas de ocorrência, sobre-exploração e ausência de práticas adequadas de conservação. Esses fatores contribuem para a homogeneização genética e aumentam a vulnerabilidade dos recursos genéticos vegetais, incluindo espécies como o mamoeiro.

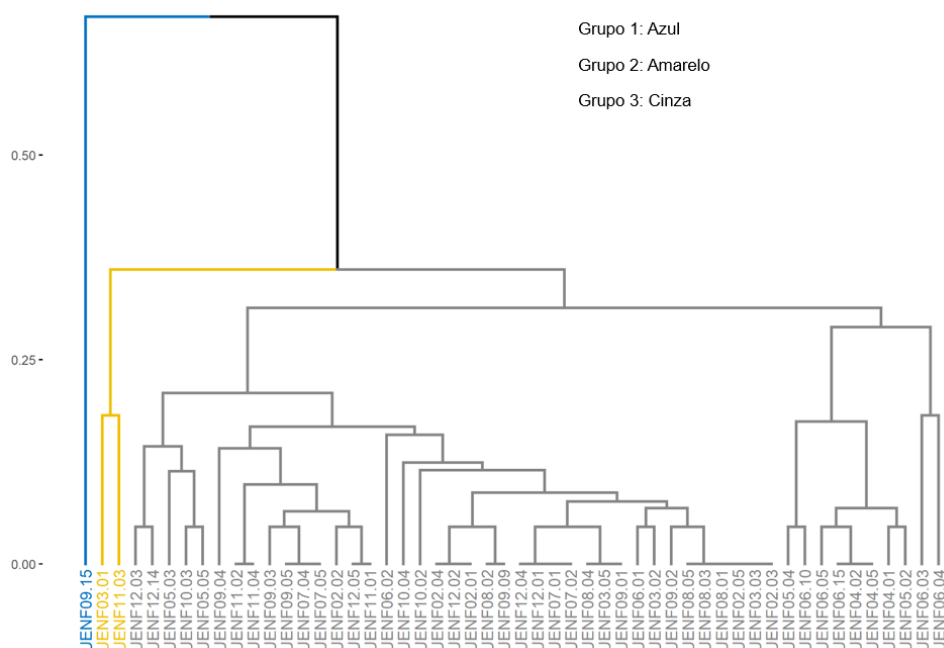


Figura 3. Dendrograma gerado a partir da metodologia UPGMA com base na análise de 52 genótipos de mamoeiro dioicos e 9 *loci* relacionados à resistência à doença.

O dendrograma referente aos 44 acessos pertencentes ao Banco de Germoplasma UENF/Caliman (Figura 4) revelou a formação de quatro grupos distintos: o Grupo 1 (azul), contendo apenas um acesso (BAG16); o Grupo 2 (amarelo), que abrange a maioria dos genótipos; o Grupo 3 (cinza), com um único acesso (BAG26); e o Grupo 4 (vermelho), formado por três acessos (BAG43, BAG19 e BAG18). A predominância de genótipos no Grupo 2 sugere a existência de uma base genética compartilhada entre grande parte dos materiais, possivelmente relacionada à origem comum de muitos desses acessos. Ainda assim, a formação de grupos menores e a presença de acessos isolados, como BAG16 e BAG26 evidenciam que o banco também conserva materiais geneticamente distintos, reforçando seu papel estratégico na preservação da variabilidade genética, essencial para programas de melhoramento.

Segundo Varshney et al. (2005), marcadores *SSR-EST* são derivados de regiões codificadoras do genoma e, portanto, apresentam maior chance de estarem associados a genes funcionalmente ativos, como os envolvidos na resposta a estresses bióticos. Com base nisso, a identificação de acessos geneticamente distintos nos Grupos 1 e 3 torna-se especialmente relevante, uma vez que esses materiais podem carregar alelos únicos potencialmente associados à resistência ao PRSV-P. A inclusão desses acessos em estudos fenotípicos mais aprofundados pode contribuir para a identificação de variantes genéticas úteis em programas de melhoramento, sobretudo na seleção assistida por marcadores voltada à resistência ao PRSV-P.

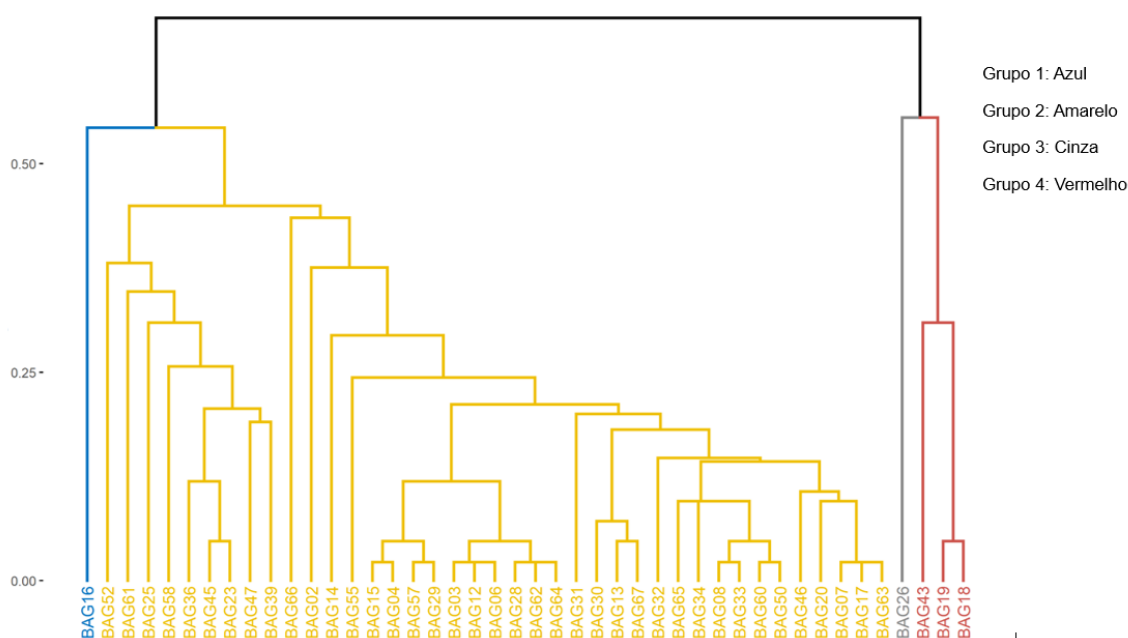


Figura 4 . Dendrograma gerado a partir da metodologia UPGMA com base na análise de 44 genótipos de mamoeiro do Banco de Germoplasma UENF/Caliman e 9 *loci* relacionados à resistência a doença.

Nos dendrogramas apresentados nas Figuras 2 e 3, alguns acessos exibiram total similaridade genética com base nos nove *loci SSR-EST* analisados, o que pode sugerir redundância no Banco de Germoplasma. No entanto, como os marcadores utilizados representam apenas regiões codificadoras do genoma, e considerando o número limitado de *loci* avaliados, não é possível confirmar a presença de duplicatas genéticas com base nesses dados. A similaridade observada pode refletir uma baixa variabilidade nas regiões analisadas ou uma origem genética comum entre os acessos, e não necessariamente a duplicação de material. Para uma inferência mais

robusta sobre a identidade genética entre genótipos, seria necessário o uso de um conjunto mais amplo e distribuído de marcadores ao longo do genoma.

A análise da estrutura populacional por meio do software Structure, utilizando o critério de Evanno et al. (2005), indicou que o valor ótimo de K foi igual a 2. No entanto, o gráfico de ΔK apresentou um pico secundário expressivo, sugerindo uma estrutura genética mais complexa do que inicialmente observado, com indícios de uma possível subdivisão adicional que pode corresponder a até quatro populações (Figura 5). O gráfico de barras correspondente a K=2 (Figura 6A) evidencia que a maioria dos indivíduos do grupo vermelho pertence aos acessos prospectados, enquanto os genótipos do grupo verde correspondem, em sua maioria, ao Banco de Germoplasma UENF/Caliman. Já o gráfico de barras referente a K=4 (Figura 6B) revela uma estrutura genética mais subdividida, com a formação de quatro grupos distintos, os acessos prospectados continuam concentrados majoritariamente no grupo vermelho, enquanto os acessos do Banco de Germoplasma UENF/Caliman apresentam maior diversidade, com indivíduos alocados nos grupos verde, azul e amarelo o que sugere uma maior diversidade genética entre os acessos analisados.

Essa separação sugere uma diferenciação genética entre os dois conjuntos de materiais, possivelmente relacionada às distintas origens geográficas e aos históricos de manejo. Essa tendência de separação também foi observada nos três dendrogramas analisados, apresentando parcial concordância com os agrupamentos formados por esses métodos. Assim, todos os métodos indicam uma diferenciação genética consistente entre os acessos prospectados e os do Banco de Germoplasma, reforçando essa hipótese.

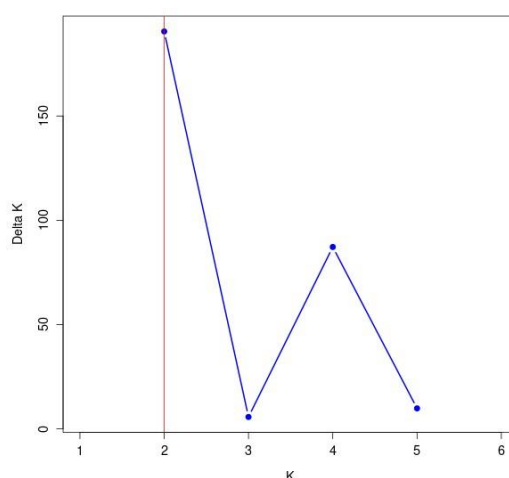


Figura 5. Delta K (ΔK) para os respectivos números de grupos (K).

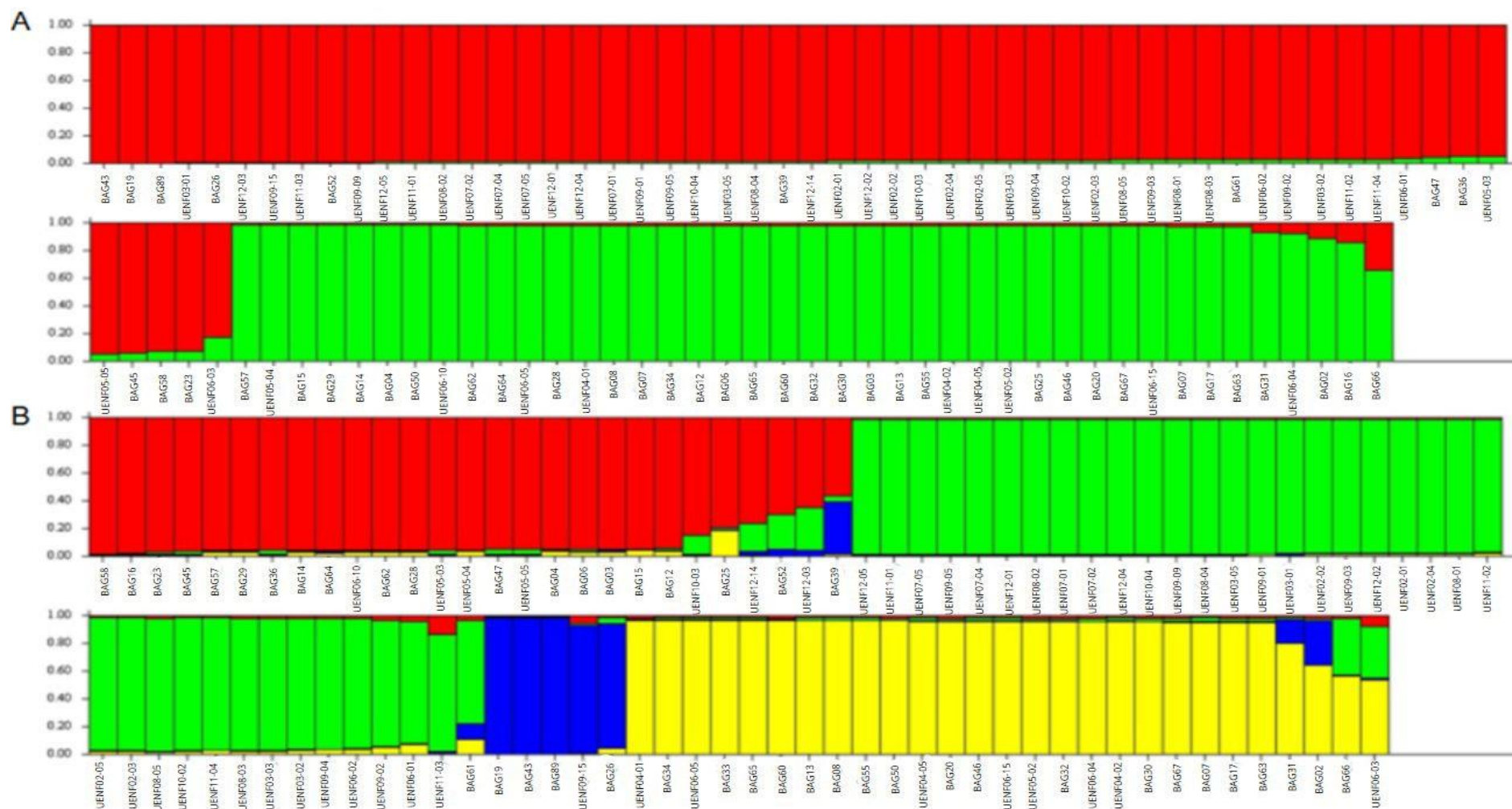


Figura 6. Agrupamento de 96 acessos de mamoeiro obtido por inferência bayesiana: (A) estrutura populacional considerando K=2 ; (B) estrutura populacional considerando K=4.

5.4 Análise de *Boxplot*

A análise de *Boxplot* (Figura 6) foi utilizada para analisar a relação entre a média para índice de doença (ID%) (Apêndice, Tabela 1) com as informações genóticas dos *loci* analisados, os quais possuem anotação funcional de associação à resistência a doenças virais. No entanto, não foi possível observar uma associação direta desses *loci* com a resistência ao PRSV-P. Embora os *loci* estudados tenham sido previamente relacionados a mecanismos de resistência a patógenos virais, os resultados sugerem que eles não estão diretamente envolvidos na resposta ao PRSV-P nos materiais genéticos avaliados.

De acordo com Zhou et al. (2015), em um estudo comparativo entre marcadores *SSR* e *SSR-EST* para análise da variabilidade genética em cultivares de tomate, os marcadores *SSR-EST*, por estarem associados a regiões expressas do genoma, nem sempre refletem diretamente a variabilidade relacionada às características específicas, como resistência a patógenos. No caso do mamoeiro, é possível que os *loci* analisados, embora relacionados a mecanismos de defesa contra patógenos virais, não sejam os principais responsáveis pela resistência ao PRSV-P. Outros genes e regiões genômicas, não cobertos pelos marcadores utilizados, podem estar envolvidos nessa resposta.

Foram identificados dois genótipos com baixo índice de doença (ID% = 0,00) nos trabalhos desenvolvidos por Santos et al. (2024) e Braga (2024), indicando possível tolerância ou resistência ao PRSV-P. No entanto, a ausência de associação entre os *loci* analisados e a resistência ao vírus sugere que outros *loci* genômicos, não incluídos nesta análise, podem estar envolvidos na resposta de tolerância ou resistência ao PRSV-P. Essa hipótese está alinhada com estudos anteriores, como os trabalhos Braga (2024) e Santos (2024), que também identificaram materiais genéticos com alta suscetibilidade ao PRSV-P, mas destacaram a complexidade genética envolvida na resistência a esse vírus. Os valores de índice de doença observados para os genótipos analisados estão apresentados no Apêndice, Tabela 1.

Portanto, embora os dois genótipos com ID = 0,00 sejam promissores para futuros estudos, é necessário expandir as análises moleculares para outros *loci* genômicos, a fim de compreender melhor os mecanismos de resistência ao PRSV-P e identificar marcadores moleculares associados a essa característica.

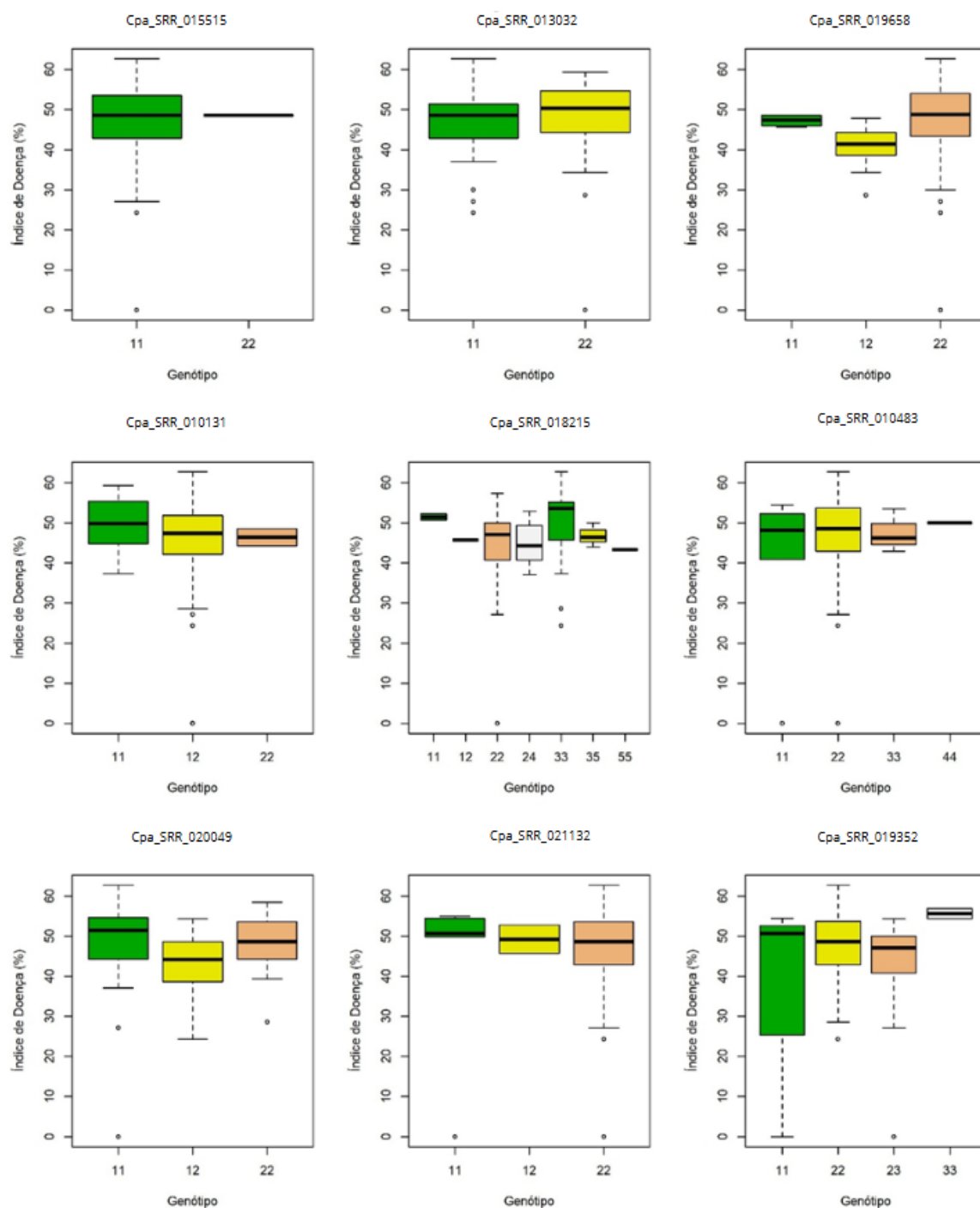


Figura 7. Gráfico *Boxplot* representando a associação entre genótipo e fenótipo dos 9 loci SSR-EST e os índices de doença (ID) para PRSV-P.

6. CONCLUSÃO

A caracterização genética realizada permitiu avaliar a diversidade genética dos 96 acessos de mamoeiro estudados, evidenciando um nível de variabilidade moderado. As medidas de diversidade indicaram a existência de variabilidade genética, o que reforça a importância da conservação e ampliação dos estudos sobre o germoplasma avaliado.

As análises de agrupamento revelaram a existência de um núcleo genético predominante, com algumas variações que podem ser exploradas em programas de melhoramento genético.

A análise da relação entre os *loci* *SSR-EST* e a resistência ao Papaya ringspot virus (PRSV-P) não identificou uma associação significativa entre os *loci* analisados e a resistência ao PRSV-P, o que indica a necessidade de explorar outros marcadores moleculares para melhor compreensão dos mecanismos genéticos envolvidos na resposta ao patógeno.

Dessa forma, este estudo contribuiu para a caracterização genética dos acessos avaliados, fornecendo bases para futuros trabalhos voltados à identificação de marcadores associados à resistência a doenças e ao melhoramento genético do mamoeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AULAR, J.; NATALE, W. Nutrição mineral e qualidade do fruto de algumas frutíferas tropicais: goiabeira, mangueira, bananeira e mamoeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 35, n. 4, p. 1214-1231, 2013.
- BADILLO, V. M. Carica L. vs. Vasconcella St. Hil. (Caricaceae): con la rehabilitación de este último. *Ernstia*, v. 10, p. 74-79, 2000.
- BOHRY, D.; RAMOS, H. C. C.; SANTOS, P. H. D.; BOECHAT, M. S. B.; ARÊDES, F. A. S.; PIROVANI, A. A. V.; PEREIRA, M. G. Descoberta de SNPs e InDels em genótipos de mamão e seu potencial para seleção assistida por marcadores de características de qualidade de frutos. *Scientific Reports*, v. 11, p. 292, 2021.
- BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, v. 32, n. 3, p. 314-331, 1980.
- BRAGA, Catiane dos Santos. Banco de germoplasma de mamoeiro UENF-Caliman: Caracterização da resistência ao PRSV-P e respostas da eficiência fotoquímica à infecção viral. 2024. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes.

- CARVALHO, A. M. da S.; LIMA, C. S.; SILVA, C. de F. B. da. Mancha anelar. In: PAULA FILHO, A.; CEIA, P. (Orgs.). Mamoeiro do Grupo Solo. Brasília: Embrapa, 2022. p. 163-170.
- COSTA, A. F. S.; PACOVA, B. E. V. Caracterização de cultivares, estratégias e perspectivas do melhoramento genético do mamoeiro. In: MARTINS, D. S.; COSTA, A. F. S. (Ed.). A cultura do mamão: tecnologia e produção. Vitória: Incaper, 2003. p. 59-102.
- COSTA, T. E. M. M.; DIAS, A. P. M.; SCHEIDEGGER, É. M. D.; MARIN, V. A. Avaliação de risco dos organismos geneticamente modificados. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 16, n. 1, p. 327-336, 2011.
- CRUZ NETO, A. J.; GERUM, A. F. A. A.; OLIVEIRA, A. M. G.; BARBOSA, C. J.; SCHNADELBACH, A. S. Decréscimo na produção de mamão: um estudo de caso no extremo sul da Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 25., 2017. Anais... [S.l.: s.n.], 2017.
- CRUZ, C. D. Programa GENES: Diversidade genética. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2008.
- DAMASCENO JUNIOR, P. C.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SILVA, F. F.; SOUZA, M. M.; NICOLI, R. G. Modo preferencial de reprodução da planta de mamão hermafrodita (*Carica papaya* L.; Caricaceae). *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 182-189, 2009.
- DANTAS, J. L. L.; LIMA, J. F. Seleção e recomendação de variedades de mamoeiro - Avaliação de linhagens e híbridos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 617-621, 2001.
- DANTAS, J. L. L.; OLIVEIRA, E. J.; PEREIRA, M. G.; CATTANEO, L. F. Melhoramento genético do mamoeiro no Brasil. In: Melhoramento genético de fruteiras tropicais. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2011.
- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, v. 14, n. 8, p. 2611-2620, 2005.

- EVANS, E. A.; BALLEEN, F. H. Uma visão geral da produção, comércio e consumo global de mamão. Extensão da IFAS, FE913, 2012.
- FALEIRO, F. G.; OLIVEIRA, J. S.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SANTOS, R. S. Banco de Germoplasma de *Passiflora* L. 'Flor da Paixão' no portal Alelo Recursos Genéticos. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2019.
- GONÇALVES, M. C. F.; LEONARDO, P. A. F.; PEREIRA FILHO, V. J. Produção de mamão no Brasil. Campo & Negócios, 2022.
- GONSALVES, D.; TRIPATHI, S.; CARR, J. B.; SUZUKI, J. Y. Papaya ringspot virus. Plant Health Instructor, 2010.
- GUIMARÃES, R. A.; MIRANDA, K. M. C.; MOTA, E. E. S.; CHAVES, L. J.; TELLES, M. P. C.; SOARES, T. N. Avaliando a diversidade genética e a estrutura populacional em uma coleção de germoplasma de *Dipteryx alata* utilizando marcadores microssatélites. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 19, n. 3, p. 329-336, 2019.
- IOANNIDIS, K.; TOMPROU, I.; MITSIS, V.; KOROPOULI, P. Avaliação genética de plantas de *Cannabis sativa* L. micropropagadas e regeneradas *in vitro* utilizando marcadores moleculares SSR. *Plantas*, v. 11, n. 19, p. 2569, 2022.
- JENSEN, D. D. Doenças virais do mamoeiro com especial referência ao mosaico do mamoeiro. *Fitopatologia*, v. 39, p. 191-211, 1949.
- LEE, C. Y.; LIN, H. J.; VISWANATH, K. K.; LIN, C. P.; CHANG, B. C. H.; CHIU, P. H.; CHIU, C. T.; WANG, R. H.; CHIN, S. W.; CHEN, F. C. O desenvolvimento do mapeamento funcional por meio de três *loci* relacionados ao sexo no terceiro verticilo de diferentes tipos sexuais de *Carica papaya* L. *PLoS ONE*, v. 13, n. 3, p. e0194605, 2018.
- LIAO, Z.; ZHANG, X.; ZHANG, S.; LIN, Z.; ZHANG, X.; MING, R. Variações estruturais nos genomas do mamoeiro. *BMC Genomics*, v. 22, p. 335, 2021.
- LIU, K.; MUSE, S. V. PowerMarker: um ambiente de análise integrado para análise de marcadores genéticos. *Bioinformatics*, v. 21, n. 9, p. 2128-2129, 2005.

- MARIN, S. L. D. Melhoramento genético do mamoeiro (*Carica papaya* L.): Habilidade combinatória de genótipos dos grupos 'solo' e 'formosa'. 2002. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2002.
- MARIN, S. L. D.; ARANTES, S. D.; LEDO, C. A. S. Melhoramento genético de mamão (*Carica papaya* L.) no Brasil, México e nas Ilhas Canárias, Espanha. In: SIMPÓSIO DO PAPAYA BRASILEIRO, 7., 2018. Anais... [S.l.: s.n.], 2018.
- MATOS, E. L. S.; OLIVEIRA, E. J.; JESUS, O. N.; DANTAS, J. L. L. Microsatellite markers of genetic diversity and population structure of *Carica papaya*. *Annals of Applied Biology*, v. 163, p. 298-310, 2013.
- MEDINA-SALGUERO, A. X.; CORNEJO-FRANCO, J. F.; GRINSTEAD, S.; MOWERY, J.; MOLLOV, D.; QUITO-ÁVILA, D. F. Caracterização genética de um isolado leve do vírus do mosaico do mamoeiro tipo-P (PRSV-P) e avaliação de seu potencial de proteção cruzada em condições de estufa e campo. *PLoS ONE*, v. 16, n. 2, p. e0241652, 2021.
- MEIRELES, P. G. Divergência genética entre linhagens de milho estimada por microsatélites e correlação com desempenho de híbridos simples. 2009. 92 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2009.
- MENDES, T. N. Análise de marcadores SSR-ESTs relacionados à firmeza do fruto em mamoeiro (*Carica papaya* L.). 2017. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2017.
- MENDOZA, E. M. T.; LAURENA, A. C.; BOTELLA, J. R. Avanços recentes no desenvolvimento da tecnologia transgênica do mamoeiro. *Biotechnology Annual Review*, v. 14, p. 423-462, 2008.
- MIR, A. H.; BHAT, M. A.; FAYAZ, H. et al. Marcadores SSR revelando a extensão da diversidade genética e relacionamentos filogenéticos entre acessos da coleção nuclear de grão-de-bico para o Himalaia Ocidental. *Molecular Biology Reports*, v. 49, p. 11469-11479, 2022.

- NA, J. K.; WANG, J.; MURRAY, J. E.; GSCHWEND, A. R.; ZHANG, W.; YU, Q.; PÉREZ, R. N.; FELTUS, A. F.; CHEN, C.; KUBAT, Z.; MOORE, P. H.; JIANG, J.; PATERSON, A. H.; MING, R. Construção de mapas físicos para as regiões específicas de sexo dos cromossomos sexuais do mamoeiro. *BMC Genomics*, v. 13, p. 176, 2012.
- NETTO, A. T.; CAMPOSTRINI, E.; AZEVEDO, L. C.; SOUZA, M. A.; RAMALHO, J. C.; CHAVES, M. M. Análise morfológica e desempenho fotossintético de genótipos melhorados de mamoeiro. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 21, n. 3, p. 209-216, 2009.
- OLIVEIRA, A. A. R.; NASCIMENTO, A. S.; BARBOSA, C. J.; SANTOS FILHO, H. P.; MEISSNER FILHO, P. E. Doenças. In: RITZINGER, C. H. S. P.; SOUZA, J. S. Mamão Fitossanidade. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. p. 37-50.
- OLIVEIRA, E. J. de; LIMA, D. S. de; LUCENA, R. S.; MOTTA, T. B. N.; DANTAS, J. L. L. Correlações genéticas e análise de trilha para número de frutos comerciais por planta em mamoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 45, n. 8, p. 855-862, 2010.
- OLIVEIRA, E. J.; AMORIM, V. B. O.; MATOS, E. L. S.; COSTA, J. L.; CASTELLEN, M. S.; PÁDUA, J. G.; DANTAS, J. L. L. Polymorphism of microsatellite markers in papaya (*Carica papaya* L.). *Plant Molecular Biology Reporter*, v. 28, p. 519-530, 2010.
- OLIVEIRA, Gilmara Alvarenga Fachardo. Identificação, caracterização e validação de marcadores minissatélites para o mamoeiro. 2015. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, 2015.
- OLIVEIRA, V. H.; LIMA, R. N. Influência da irrigação e da localização da inflorescência sobre a expressão do sexo em cajueiro-anão precoce. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 35, p. 1751-1758, 2000.

- PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research an update. *Bioinformatics*, v. 28, n. 19, p. 2537-2539, 2012.
- PEREIRA, M. G.; LUZ, L. N. da; SANTA-CATARINA, R.; RAMOS, H. C. C.; PEREIRA, T. N. S.; BARROS, G. de B.; FERREGUETTI, G. A.; VIVAS, M.; CORTES, D. F. M.; VETTORAZZI, J. C. F.; AZEVEDO, A. O. N.; SILVEIRA, S. F. da; OLIVEIRA, J. G. de; VIANA, A. P. Melhoramento de Culturas e Biotecnologia Aplicada. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 19, p. 131-134, 2019.
- PREMCHAND, U.; MESTA, R. K.; DEVAPPA, V.; BASAVARAJAPPA, M. P.; VENKATARAVANAPPA, V.; NARASIMHA REDDY, L. R. C.; SHANKARAPPA, K. S. Levantamento, detecção, caracterização do Vírus do Mosaico do Mamoeiro do Sul da Índia e Manejo da Doença do Mosaico do Mamoeiro. *Pathogens*, v. 12, p. 824, 2023.
- REIS, N. V. Caracterização molecular de famílias S1 e S2 de goiabeira (*Psidium guajava* L.). 2023. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – UENF/CCTA, Campos dos Goytacazes/RJ.
- REIS, R. C.; VIANA, E. de S.; JESUS, J. L. de; DANTAS, J. L. L.; LUCENA, R. S. Caracterização físico-química de frutos de novos híbridos e linhagens de mamoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 50, n. 3, p. 210-217, 2015.
- REZENDE, J. A. M.; MOREIRA, A. G.; MORETTI, E. R.; VENTURA, J. A.; COSTA, H.; MARTINS, M. V. V.; RODRIGUES, C. H. Roguing para o controle do mosaico do mamoeiro no estado do Espírito Santo: Um caso de sucesso e perspectivas. In: PAPAYA BRASIL, 2007. Anais... [S.l.: s.n.], 2007. p. 103-111.
- RUGGIERO, C.; MARIN, S. L. D.; DURIGAN, J. F. Mamão, uma história de sucesso. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 33, n. 1, p. 76-82, 2011.
- SAITOU, N.; NEI, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, v. 4, n. 4, p. 406-425, 1987.

- SALEEM, A.; ALI, Z.; YEH, S. D.; SAEED, W.; BINAT IMDAD, A.; AKBAR, M. F.; GOODMAN, R. E.; NASEEM, S. Variabilidade genética e dinâmica evolutiva do vírus atípico do mosaico do mamoeiro infectando o mamoeiro. *PLoS ONE*, v. 16, n. 10, p. e0258298, 2021.
- SALEM, K. F. M.; VARSHNEY, R. K.; RÖDER, M. S.; BÖRNER, A. EST-SSR based estimates on functional genetic variation in a barley (*Hordeum vulgare* L.) collection from Egypt. *Genetic Resources and Crop Evolution*, v. 57, n. 4, p. 515-521, 2010.
- SALGOTRA, R. K.; CHAUHAN, B. S.; Genetic Diversity, Conservation, and Utilization of Plant Genetic Resources. *Genes* 14, 174, 2023.
- SANTANA, J. G. S.; RAMOS, H. C. C.; SANTA-CATARINA, R. et al. Explorando a diversidade genética em linhagens endogâmicas de mamoeiro para qualidade de frutas em estágio avançado de melhoria. *Scientific Reports*, v. 13, p. 13431, 2023.
- SANTANA, L. F.; INADA, A. C.; ESPÍRITO SANTO, B. L. S.; FILIÚ, W. F. O.; POTT, A.; ALVES, F. M.; GUIMARÃES, R. C. A.; FREITAS, K. D. C.; HIANE, P. A. Potencial nutracêutico de *Carica papaya* na síndrome metabólica. *Nutrients*, v. 11, p. 1608, 2019.
- SANTOS FILHO, H. P.; OLIVEIRA, A. A. R.; SANCHES, N. F.; CRUZ, J. L.; LOPES, F. F.; ANDRADE, P. R.; LEDO, C. A. da S.; SILVA, J. S. Comportamento de mamoeiro dos grupos solo e formosa ante a presença de *Asperisporium caricae* Speg Maubl agente causal da pinta preta. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 21., 2010. Anais... Natal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2010.
- SANTOS, Juliana Saltires; BRAGA, Catiane dos Santos; RIBEIRO, Gabriel Jovêncio; TAVARES, Rayssa Minguta; RODRIGUES, Alex Souza; SILVA, Ronaldiane Pereira da; SANTA-CATARINA, Renato; RAMOS, Helaine Christine Cancela. Eficiência fotossintética em genótipos de mamoeiro sob estresse induzido pelo Papaya ringspot virus (PRSV-P). In: IX PAPAYA BRASIL, 2024. Anais do IX Papaya Brasil. Vitória: Incaper, 2024. Disponível

em: <https://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/item/4779/1/Anais-IX-Papaya-Brasil-2024-Incaper.pdf>. Acesso em: 12 fev. 2025.

- SENGUPTA, S.; DAS, B.; PRASAD, M.; ACHARYYA, P.; GHOSE, K. T. Uma pesquisa comparativa da diversidade genética entre um conjunto de acessos de Caricaceae usando marcadores microsatélites. *SpringerPlus*, v. 2, p. 345, 2013.
- SHARMA, A.; SHARMA, R.; SHARMA, M.; KUMAR, M.; BARBHAI, M. D.; LORENZO, J. M.; SHARMA, S.; SAMOTA, K. M.; CARUSO, G. A. M.; NAUSHAD, M.; RADHA; CHANDRAN, D.; PRAKASH, P.; HASAN, M.; RAIS, N.; DEY, A.; MAHATO, K. D.; DHUMAL, S.; SINGH, S.; SENAPATHY, M.; RAJALINGAM, S.; VISVANATHAN, M.; SALEENA, K. A. L.; MEKHEMAR, M. Folhas de *Carica papaya* L.: Decifrando seus bioativos antioxidantes, atividades biológicas, produtos inovadores e aspectos de segurança. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2022, p. 20, 2022.
- SOUZA, D. C. L. Técnicas moleculares para caracterização e conservação de plantas medicinais e aromáticas: uma revisão. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, Campinas, v. 17, n. 3, p. 495-503, 2015.
- TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA5: Análise Genética Evolutiva Molecular utilizando métodos de Máxima Verossimilhança, Distância Evolutiva e Máxima Parcimônia. *Molecular Biology and Evolution*, v. 28, n. 10, p. 2731-2739, 2011.
- TAN, Y. D. Recombination disequilibrium in ideal and natural populations. *Genomics*, v. 112, p. 3943-3950, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.06.034>.
- VENTURA, J. A.; COSTA, H.; TATAGIBA, J. S. Doenças do mamoeiro e controle integrado. In: SAMH NAQVI (Ed.). Doenças de Frutas e Vegetais: Diagnóstico e Manejo. Londres: Kluwer Academic Publishers, 2004. p. 201-268.
- VIDAL, N. M.; GRAZZIOTIN, A. L.; RAMOS, H. C. C.; PEREIRA, M. G.; VENANCIO, T. M. Desenvolvimento de um Atlas SSR Centrado em Genes como Recurso

para Seleção Assistida por Marcador de Mamão (*Carica papaya*) e Estudos Genéticos Populacionais. *PLoS ONE*, v. 9, n. 11, p. e112654, 2014.

WU, Z.; MO, C.; ZHANG, S.; LI, H. Caracterização de isolados do vírus do mosaico do mamoeiro infectando o mamoeiro transgênico 'Huanong No.1' no sul da China. *Scientific Reports*, v. 8, p. 8206, 2018.

XU, Y.; XU, H.; WALL, M. M.; YANG, J. Papéis da família de genes do fator de transcrição SQUAMOSA promoter binding protein-like no desenvolvimento e amadurecimento do mamoeiro (*Carica papaya*). *Genômica*, v. 112, p. 2734-2747, 2020.

ZHANG, Y.; ZHANG, X.; CHEN, X.; SUN, W.; LI, J. Diversidade genética e estrutura da planta de chá na área de Qinba, na China, por três tipos de marcadores moleculares. *Hereditas*, v. 155, p. 22, 2018.

ZHOU, P.; ZHANG, X.; MA, X.; YUE, J.; LIAO, Z.; MING, R. Genes relacionados à metilação afetam a diferenciação sexual em mamoeiros dioicos e ginodioicos. *Horticulture Research*, v. 9, 2022

Zhou R, Wu Z, Jiang FL, Liang M. Comparison of *gSSR* and *EST-SSR* markers for analyzing genetic variability among tomato cultivars (*Solanum lycopersicum* L.). *Genet Mol Res*. 2015 Oct 27;14(4):13184-94. doi: 10.4238/2015.October.26.14. PMID: 26535631.

APÊNDICE

Tabela 1A. Índice de doença (ID%) causada pelo PRSV-P em 96 acessos de mamoeiro avaliados em casa de vegetação.

Genótipos	ID%
UENF06-01	42,9
UENF06-02	42,9
UENF06-03	48,6
UENF06-04	48,6
UENF06-05	42,9
UENF04-01	44,3
UENF04-02	40,0
UENF04-05	45,7
UENF07-01	45,7
UENF07-02	54,3
UENF07-04	38,6
UENF07-05	48,6
UENF03-01	50,0
UENF03-02	48,6
UENF03-03	48,6
UENF03-05	48,6
UENF09-01	50,0
UENF09-02	38,6
UENF09-03	50,0
UENF09-04	44,3
UENF09-05	37,1
UENF12-01	38,6
UENF12-02	42,9
UENF12-03	54,3
UENF12-04	51,4
UENF12-05	44,3
UENF11-01	52,9
UENF11-02	44,3
UENF11-03	42,9
UENF11-04	44,3
UENF02-01	37,1
UENF02-02	38,6
UENF02-03	41,4
UENF02-04	50,0
UENF02-05	48,6
UENF08-01	30,0
UENF08-02	51,4
UENF08-03	47,1
UENF08-04	48,6
UENF08-05	38,6
UENF10-02	48,6
UENF10-03	47,1
UENF10-04	45,7
UENF05-02	41,4
UENF05-03	34,3
UENF05-04	45,7
UENF05-05	44,3

Tabela 1A. Cont.

Genótipos	ID%
UENF12-14	0,00
UENF09-09	27,10
UENF09-15	45,70
UENF06-10	28,60
UENF06-15	24,3
BAG17	62,67
BAG20	47,78
BAG13	50,00
BAG08	53,56
BAG33	57,56
BAG63	52,89
BAG07	55,33
BAG26	52,22
BAG34	58,44
BAG14	53,66
BAG16	53,50
BAG02	54,89
BAG15	55,11
BAG12	54,00
BAG06	55,11
BAG04	54,89
BAG47	50,67
BAG65	
BAG66	54,00
BAG58	46,22
BAG55	53,78
BAG60	56,89
BAG52	56,89
BAG61	52,78
BAG50	39,33
BAG32	37,33
BAG62	48,89
BAG45	57,33
BAG64	46,22
BAG57	54,67
BAG25	43,33
BAG43	50,67
BAG29	56,00
BAG30	46,44
BAG28	59,33
BAG19	54,44
BAG31	49,78
BAG23	40,56
BAG39	40,89
BAG36	50,00
BAG67	44,00
BAG46	58,44
BAG89	0,00
BAG03	54,67