

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

LIANA HILDA GOLIN MENGARDA

ASPECTOS FISIOLÓGICOS E BIOTECNOLÓGICOS DA PROPAGAÇÃO DO
MAMOEIRO (*Carica papaya* L.)

Alegre - ES

2014

LIANA HILDA GOLIN MENGARDA

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E BIOTECNOLÓGICOS DA PROPAGAÇÃO DO
MAMOEIRO (*Carica papaya* L.)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Produção Vegetal, na linha de pesquisa em Biotecnologia e Ecofisiologia do Desenvolvimento de Plantas.

Doutoranda: Liana Hilda Golin Mengarda

Orientador: Prof. D.Sc. José Carlos Lopes

Coorientador: Prof. D.Sc. Rodrigo Sobreira Alexandre

Alegre - ES

2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

M534a Mengarda, Liana Hilda Golin, 1983-
Aspectos fisiológicos e biotecnológicos da propagação do mamoeiro (*Carica papaya* L.) / Liana Hilda Golin Mengarda. – 2014.
194 f. : il.

Orientador: José Carlos Lopes.

Coorientador: Rodrigo Sobreira Alexandre.

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Sementes. 2. Embriogênese somática. 3. Estresse abiótico em plantas. 4. Mobilização de reservas. 5. Fisiologia vegetal. 6. Melhoramento vegetal I. Lopes, José Carlos. II. Alexandre. Rodrigo Sobreira. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. IV. Título.

CDU: 63

LIANA HILDA GOLIN MENGARDA

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E BIOTECNOLÓGICOS DA PROPAGAÇÃO DO
MAMOEIRO (*Carica papaya* L.)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do CCA da UFES, como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Produção Vegetal, na linha de pesquisa em Biotecnologia e Ecofisiologia do Desenvolvimento de Plantas.

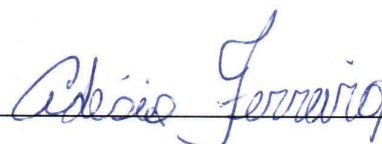
Aprovada em: 05 de dezembro de 2014.

Banca examinadora:



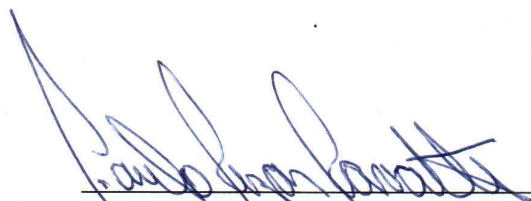
Prof. Carolina Maria Palácios de Souza

Instituto Federal do Espírito Santo



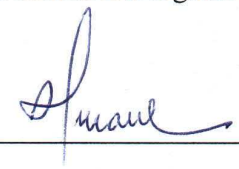
Prof. Adésio Ferreira

Dpto. Produção Vegetal da UFES



Prof. Paulo César Cavatte

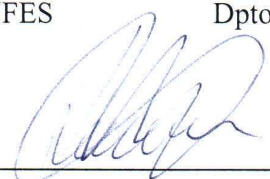
Dpto. Ciências Biológicas da UFES



Prof. Rodrigo Sobreira Alexandre

Dpto. Ciências Florestais e da Madeira da

UFES (Coorientador)



Prof. José Carlos Lopes

Dpto. Produção Vegetal da UFES

(Orientador)

“Porque nós estamos nas Suas mãos, nós e nossos discursos, toda a nossa inteligência e nossa habilidade; foi Ele que me deu a verdadeira ciência de todas as coisas, (...) foi a sabedoria, criadora de todas as coisas, que me ensinou” (Sb 7, 16-21)

À minha querida avó, nona Helena, dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte de toda força e inspiração!

À minha família, pela fé depositada em meus sonhos.

Ao Anderson, pelo grande otimismo e por caminhar junto a mim em busca desta conquista.

Ao meu Orientador Prof. José Carlos Lopes, que dedicou muita experiência e conhecimento, além dos valiosos ensinamentos de vida, contribuindo com a minha formação acadêmica, profissional e pessoal.

Ao meu Coorientador Prof. Rodrigo Sobreira Alexandre, pelas audaciosas idéias e pelo apoio essencial para colocá-las em prática.

Aos Professores e Pesquisadores Adésio Ferreira, Paulo Cezar Cavatte e Carolina Maria Palácios de Souza, pela contribuição especial no desenvolvimento e na conclusão deste trabalho.

Aos professores e pesquisadores do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal da UFES, pelos valiosos ensinamentos transmitidos.

Aos queridos amigos Allan, Carla, Carlos, Carlinhos, Cristiani, Diego, Elias, Fabiana, Geovana, Khetrin, Ludymilla, Márcia, Pedro, Rafael, Rômulo, e demais colegas do curso e do Laboratório de Análise de Sementes, pela cooperação, cumplicidade e alegria.

Aos colegas de pesquisa com *Carica papaya*, Alice de Freitas Braga e Rafael Breda Buffon.

Ao estimado casal “Ludy & Rafa” e a querida amiga Geovana, pelo acolhimento, apoio emocional e intelectual, e, principalmente, pela grande amizade!

Aos brilhantes colegas Rafael Fonseca Zanotti, Tiago de Souza Marçal e José Henrique Soren Guilhen, pelas contribuições no aprendizado em estatística.

Aos funcionários e ex-funcionários Alessandra, Breno, Carlos, Gabriela, José Maria, Luzia, Madalena, Marilda, Sabrina e Silvio, pelo apoio, paciência e dedicação.

Ao Laboratório de Análise de Sementes, em nome do professor José Carlos Lopes, e ao Laboratório de Fisiologia Vegetal e Cultura de Tecidos, do CCA-UFES, em nome do professor Ruimário Inácio Coelho, aonde foi realizada esta pesquisa.

Ao Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) do CCA-UFES, em nome do professor Dirceu Pratisoli, pela disponibilização do equipamento para registro fotográfico.

Ao Laboratório de Fisiologia e Nutrição Mineral de Plantas do CCA-UFES, em nome do professor José Augusto Teixeira do Amaral e do técnico Silvio, pela colaboração com as análises bioquímicas.

Ao Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins da UFES, em nome do técnico Jairo, pela realização da caracterização ultraestrutural.

Ao Prof. Wagner Campos Ottoni da Universidade Federal de Viçosa, pelo apoio com a disponibilização de reagentes, sempre que solicitado.

À Caliman Agrícola S/A, em nome do pesquisador Geraldo Ferregueti, pelo fornecimento do material vegetal para a realização desta pesquisa.

Ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal e a Universidade Federal do Espírito Santo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de pós-graduação.

Este trabalho não teria sido realizado sem a colaboração de cada um de vocês.

Vocês compartilham comigo desta conquista.

Muito obrigada!

BIOGRAFIA

Liana Hilda Golin Mengarda, filha de Vilmar João Mengarda e Lizete Margarida Golin Mengarda, nasceu em Curitiba, PR, no ano de 1983.

Cursou o Ensino Básico na Escola de Educação Básica Expedicionário Servino Mengarda, e o Ensino Fundamental e Médio na Escola de Educação Básica Giovani Trentini, em Rio dos Cedros, SC.

No ano de 2002 ingressou na Universidade Regional de Blumenau, em Blumenau, SC, graduando-se em Ciências Biológicas - Licenciatura e Bacharelado no ano de 2006.

Cursou Especialização *lato sensu* em Conservação e Manejo da Biodiversidade Vegetal pela Universidade Federal do Espírito Santo entre os anos de 2007 e 2008.

Em 2008, ingressou no Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, sendo bolsista da Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Município de Vitória, ES (FACITEC), obtendo o título de Mestre em Biologia Vegetal no ano de 2010.

Em 2011, ingressou no Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, sendo bolsista da Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES).

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO GERAL | 13 |
| 1.1 OBJETIVO GERAL | 15 |
| 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 16 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 17 |
| 2.1 DESCRIÇÃO BOTÂNICA DE <i>Carica papaya</i> L | 17 |
| 2.2 A CULTURA DO MAMOEIRO | 18 |
| 2.3 MELHORAMENTO DO MAMOEIRO | 20 |
| 2.3.1 Diversidade genética e parâmetros genéticos na avaliação de genótipos com base na qualidade de sementes | 22 |
| 2.3.2 Linhagens e híbridos | 23 |
| 2.4 PROPAGAÇÃO DO MAMOEIRO | 27 |
| 2.4.1 Propagação seminífera | 27 |
| 2.4.2 Propagação clonal | 30 |
| 2.5 ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA PROPAGAÇÃO DO MAMOEIRO | 36 |
| 2.5.1 Embebição de sementes e fases de absorção e água na germinação | 37 |
| 2.5.2 Constituição bioquímica das sementes e mobilização de reservas durante a germinação | 39 |
| 2.5.3 Testes de germinação e vigor | 43 |
| 2.5.4 Ação de estresses abióticos durante a germinação e o desenvolvimento do mamoeiro | 44 |
| 3 REFERÊNCIAS | 50 |
| CAPÍTULOS | |
| CAPÍTULO I - ALTERNÂNCIA DE TEMPERATURA E ENVELHECIMENTO | 63 |

| | |
|---|-----|
| ACCELERADO NA MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS DURANTE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE MAMÃO | |
| 1 INTRODUÇÃO | 65 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS | 67 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 70 |
| 4 CONCLUSÕES | 84 |
| 5 REFERÊNCIAS | 84 |
| CAPÍTULO II - ANÁLISE DE DIVERSIDADE EM GENÓTIPOS DE MAMOEIRO COM BASE NA QUALIDADE DE SEMENTES | 87 |
| 1 INTRODUÇÃO | 89 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS | 91 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 93 |
| 4 CONCLUSÕES | 107 |
| 5 REFERÊNCIAS | 108 |
| CAPÍTULO III - SALINIDADE, RESTRIÇÃO HÍDRICA E ELEVADA IRRADIÂNCIA DURANTE A GERMINAÇÃO E DESEMPENHO DE GENÓTIPOS DE MAMOEIRO | 111 |
| 1 INTRODUÇÃO | 113 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS | 114 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 117 |
| 4 CONCLUSÕES | 132 |
| 5 REFERÊNCIAS | 132 |
| CAPÍTULO IV - DESEMPENHO DAS GERAÇÕES F ₁ E F ₂ DO MAMOEIRO HÍBRIDO UENF/Caliman 01 E CORRELAÇÕES ENTRE CARACTERÍSTICAS | 135 |

GERMINATIVAS, VEGETATIVAS E REPRODUTIVAS

| | |
|--------------------------|-----|
| 1 INTRODUÇÃO | 137 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS | 139 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 141 |
| 4 CONCLUSÕES | 153 |
| 5 REFERÊNCIAS | 154 |

CAPÍTULO V - EMBIOGÊNESE SOMÁTICA DE EXPLANTES JUVENIS E DE PLANTAS HERMAFODITAS DE MAMOEIRO HÍBRIDO UENF/Caliman 01

| | |
|--------------------------|-----|
| 1 INTRODUÇÃO | 160 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS | 161 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 168 |
| 4 CONCLUSÕES | 187 |
| 5 REFERÊNCIAS | 188 |

CONSIDERAÇÕES FINAIS

ANEXOS

ANEXO I - EMERGÊNCIA E VIGOR DE MUDAS DE GENÓTIPOS DE MAMOEIRO EM FUNÇÃO DA IRRADIÂNCIA

ANEXO II - DESEMPENHO DE GENÓTIPOS DE MAMOEIRO QUANTO À QUALIDADE FÍSICA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES E ANÁLISES DE DIVERSIDADE

RESUMO

MENGARDA, Liana Hilda Golin. **Aspectos fisiológicos e biotecnológicos da propagação do mamoeiro (*Carica papaya* L.)**. 2014. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES. Orientador: Prof. D.Sc. José Carlos Lopes.

Objetivou-se, com este estudo, elucidar alguns aspectos fisiológicos e biotecnológicos da propagação do mamoeiro. Ao investigar as fases da absorção de água durante a germinação, evidenciou-se que a fase I compreendeu o período entre zero e cinco horas; a fase II, entre cinco e 120 horas; e a fase III iniciou-se após 144 horas. Com o objetivo de avaliar a influência da alternância de temperatura e do envelhecimento acelerado na mobilização de reservas durante a germinação de sementes de mamão, observou-se maior germinação sob alternância de temperatura, sendo que houve redução dos carboidratos, lipídios e proteínas na fase I, flutuações nos teores de lipídios e aumento nos teores de proteínas durante as fases II e III. Verificou-se que a mobilização dos lipídios em sementes de mamão não sofreu influência do envelhecimento acelerado, mas as sementes submetidas ao envelhecimento apresentaram menor teor de proteínas na fase III. Em seguida, objetivou-se identificar o genótipo de mamoeiro de maior desempenho inicial por meio de análises de diversidade e parâmetros genéticos relacionados às características físico-químicas e fisiológicas das sementes. Entre os genótipos avaliados, o híbrido UENF/Caliman 01 apresentou maior desempenho inicial. Posteriormente, ao avaliar os estresses induzidos por salinidade, restrição hídrica e elevada irradiância durante a germinação de sementes de mamão, observou-se que a salinidade e a restrição hídrica em potenciais osmóticos inferiores a $-0,4$ MPa, e a irradiância de $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (sol pleno) caracterizaram-se como condições de estresse. Ao avaliar o desempenho de quatro genótipos nestes estresses, constatou-se que o híbrido UENF/Caliman 01 apresentou maior desempenho germinativo nas condições de estresse salino e de restrição hídrica, enquanto o híbrido JS12 x Waimanalo apresentou maior desempenho sob elevada irradiância. Após identificar o híbrido UENF/Caliman 01 como genótipo elite, foi comparado o desempenho das gerações F_1 e F_2 quanto à qualidade de sementes e ao desenvolvimento das plantas, e investigada a associação entre as características avaliadas. Observou-se que as sementes F_1 apresentaram maior qualidade, enquanto as plantas F_2 apresentaram maiores diâmetro do caule, altura do painel e número de frutos. Observou-se que maior teor de lipídios nas sementes apresentou associação com menor número de frutos, e que menores teores de açúcares e de lipídios das sementes e menor velocidade de germinação apresentaram associação com a menor sobrevivência. Logo, a qualidade das sementes apresentou associação positiva com a sobrevivência das plantas em campo, mas não com o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo das plantas. Por fim, objetivou-se induzir a embriogênese somática de mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01, a partir de explantes juvenis e de plantas hermafroditas, utilizando diferentes fontes e concentrações de auxina. Para explantes juvenis, a suplementação do meio com $36 \mu\text{M}$ de 2,4-D foi eficiente na formação de maior número de embriões somáticos ($46,7$ embriões calo^{-1}). A adição de $48 \mu\text{M}$ de 2,4-D no meio foi mais eficiente para a maior frequência de plântulas normais (entre 16 e 30%). Para plantas hermafroditas, os tratamentos de indução com concentração $\geq 36 \mu\text{M}$ de 2,4-D promoveram menor calogênese e maior oxidação dos explantes. Foram obtidos embriões somáticos ($1,62$ embriões calo^{-1}) a partir do cultivo *in vitro* em meio com concentração inicial de $9 \mu\text{M}$ de 2,4-D.

Palavras-chave: sementes, embriogênese somática, estresses abióticos em plantas, mobilização de reservas, fisiologia vegetal, melhoramento vegetal.

ABSTRACT

This study has the objective of elucidate some physiological and biotechnological aspects of papaya propagation. In order to investigate the water uptake phases during the germination, it was observed that the phase I comprised the period between zero and five hours; the phase II, from five to 120 hours; and the phase III was initiated after 144 hours. The evaluation of the influence of alternating temperature and accelerated aging on reserve mobilization during papaya seeds germination, showed higher germination under alternating temperature, when there was a reduction of carbohydrates, lipids and proteins in phase I, fluctuations in the lipids levels and increase in the protein levels during phases II and III. It was found that accelerated aging did not influence the lipids mobilization in papaya seeds, but the seeds subjected to aging showed a lower content of proteins in phase III. Subsequently, the objective was to identify the papaya genotype with higher initial performance through analysis of genetic diversity and parameters related to the physical, chemical and physiological characteristics of seeds. Among the genotypes, hybrid UENF/Caliman 01 showed higher initial performance. Later, when evaluating the stresses induced by salinity, irradiance and water restriction during germination of papaya seeds, we observed that the salinity and the water restriction on osmotic potentials below to -0.4 MPa, and the irradiance of $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (full sun) were characterized as stress conditions. When evaluating the performance of four genotypes in these stresses, it was found that the hybrid UENF/Caliman 01 showed higher germination performance under conditions of salinity and water restriction, while the hybrid JS12 x Waimanalo showed the greater performance under high irradiance. After identifying the hybrid UENF/Caliman 01 as elite genotype, were compared the F_1 and F_2 generations performance apropos of seeds quality and development of plants, and the association between the characteristics evaluated was investigated. It was observed that the F_1 seeds showed higher quality, while F_2 plants showed greater stem diameter, panel height, and fruits number. It was observed that higher lipids levels in the seeds was associated with lower fruits number, and that lower sugar and lipid levels and lower speed of germination index were associated with lower survival. Therefore, seed quality was correlated in a positive way with the plant survival in the field, but was not correlated with the vegetative and reproductive plants development. Finally, the objective was to induce somatic embryogenesis of papaya hybrid UENF/01 Caliman from juvenile explants and hermaphrodite plants, using different sources and concentrations of auxin. For juvenile explants, the medium supplementation with $36 \mu\text{M}$ of 2,4-D was effective in the formation of higher number of somatic embryos ($46.7 \text{ embryos callus}^{-1}$). The addition of $48 \mu\text{M}$ of 2,4-D in the medium was more efficient for the increased frequency of normal plantlets (between 16 and 30%). For hermaphroditic plants, the induction in treatments with concentration $\geq 36 \mu\text{M}$ of 2,4-D showed lower callus formation and higher explants oxidation. Somatic embryos ($1.62 \text{ embryos callus}^{-1}$) were obtained from *in vitro* culture in a medium with initial concentration of $9 \mu\text{M}$ of 2,4-D.

Keywords: seeds, somatic embryogenesis, abiotic stress in plants, reserves mobilization, plant physiology, plant breeding.

1 INTRODUÇÃO GERAL

A cultura do mamoeiro (*Carica papaya* L.) representa uma importante atividade econômica para o Brasil, que se destaca como o segundo maior produtor mundial de mamão (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2013). Em decorrência de características genéticas e reprodutivas da espécie, associadas às técnicas de cultivo e manejo, existe uma grande demanda por mudas, assim como estudos relacionados à sua propagação.

Entre as questões que estimulam as pesquisas em propagação do mamoeiro, destacam-se a necessidade da produção de sementes de ótima qualidade, da avaliação do potencial agrônomo de genótipos para cultivo em condições ambientais adversas, e a propagação clonal de genótipos superiores e de mudas hermafroditas (KUNG et al., 2010; RUGGIERO et al., 2011; DANTAS et al., 2013; KOEHLER et al., 2013).

Neste estudo, foi proposto investigar alguns aspectos fisiológicos e biotecnológicos da propagação seminífera e clonal do mamoeiro, a fim de gerar informações relevantes para avanços na produção e análise de sementes, no cultivo e no melhoramento da espécie.

Na propagação seminífera, a formação de mudas vigorosas e sadias depende da qualidade fisiológica das sementes, mensurada pela avaliação da germinação e do vigor (POPINIGS, 1985; MARCOS FILHO, 2005). A expressão do vigor de sementes durante a germinação depende de fatores externos, como água e temperatura, e fatores internos, como a constituição bioquímica e a mobilização dos compostos de reservas das sementes (FERREIRA; BORGHETTI, 2004). As informações encontradas na literatura acerca da fisiologia de sementes fundamentam-se, principalmente, no estudo da germinação de sementes de grandes culturas. Logo, existe uma lacuna com relação a estes estudos com sementes de mamão. Desta forma, realizou-se o estudo da absorção de água e da mobilização de reservas durante a germinação de sementes de mamão.

Os fatores genéticos estão entre os principais responsáveis pela qualidade das sementes, e o mamoeiro apresenta elevada divergência genética para atributos relacionados à germinação e ao vigor (POPINIGS, 1985; CARDOSO et al., 2009; MACEDO et al., 2013). O vigor de sementes é uma característica fisiológica determinada pelo genótipo e modificada pelo ambiente, e a sua avaliação pode inferir sobre o desempenho de um genótipo sob condições de estresse (MARCOS FILHO, 2005). Logo, as características germinativas devem ser consideradas na avaliação do desempenho de diferentes genótipos, e a identificação de genótipos de maior vigor sob condições de estresses pode contribuir para o aprimoramento de técnicas de propagação e de melhoramento genético, conforme proposto neste trabalho.

Uma importante questão que envolve a propagação seminífera é o elevado preço das sementes dos híbridos comerciais de mamoeiro Formosa, que representam a maior parcela dos plantios no Brasil (DANTAS; OLIVEIRA, 2009; DANTAS et al., 2013). As sementes F_1 são comercializadas sob valores entre R\$ 6 e 7 mil kg^{-1} , instigando produtores a realizar plantios com sementes das gerações segregantes. No entanto, tal prática não é recomendada por ocasionar problemas relacionados à redução do vigor, à heterogeneidade do pomar, e às perdas na produtividade (MARIN et al., 2001; 2006 a; b; DANTAS et al., 2013). Este estudo propôs a caracterização do desempenho das gerações F_1 e F_2 de mamoeiro híbrido com base nas características germinativas, vegetativas e reprodutivas.

Outra problemática relacionada à propagação seminífera do mamoeiro são as limitações atribuídas à variabilidade genética e à biologia reprodutiva da espécie. Somente os frutos de plantas hermafroditas apresentam valor comercial, sendo necessário o plantio de, no mínimo, três mudas por cova para garantir a permanência de pelo menos uma planta hermafrodita. E uma vez que o plantio de híbridos de mamão depende, em grande parte, da importação de sementes, a elevado custo, aumentam os gastos com insumos e tratos culturais (TRINDADE; DANTAS, 2009; RUGGIERO et al., 2011; DANTAS et al., 2013).

Plantas de mamoeiro propagadas por clonagem podem apresentar maior uniformidade, frutificação precoce, menor altura das plantas e de inserção dos frutos (CHAN; TEO, 2002; FITCH et al., 2002; FRANCE, 2005), além da possibilidade da determinação do sexo da planta no momento do plantio. Neste sentido, metodologias para a propagação clonal do mamoeiro por meio da embriogênese somática têm sido propostas. Contudo, a técnica apresenta especificidade com relação ao genótipo, além de ser controlada por inúmeros estímulos fisiológicos, químicos e ambientais (GUERRA et al., 2006; CID, 2010; VALLE et al., 2014), havendo uma grande demanda para o desenvolvimento e para a adequação dos protocolos para diferentes genótipos de *C. papaya*.

Desta forma, o estudo de aspectos fisiológicos durante o processo germinativo, como instrumento para a análise da diversidade genética de mamoeiro, pode auxiliar na produção de sementes de qualidade e na identificação de genótipos superiores. E uma vez identificado um genótipo elite, as técnicas biotecnológicas, como a embriogênese somática *in vitro*, apresentam-se como ferramentas capazes de fixar material genético, além de sanar problemas associados à propagação seminífera do mamoeiro, em especial, com relação ao desconhecimento do sexo da planta.

1.1 OBJETIVO GERAL

Estudar aspectos físicos, bioquímicos e fisiológicos da propagação seminífera de *Carica papaya*, caracterizando a absorção de água e a mobilização de reservas das sementes, e identificando o genótipo de maior desempenho com base no potencial germinativo e na resposta a estresses durante a germinação. Sobre este genótipo, objetivou-se avaliar o desempenho das gerações F₁ e F₂ quanto às características germinativas, vegetativas e reprodutivas, e induzir a propagação clonal *in vitro* via embriogênese somática.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar as fases da absorção de água durante a germinação de sementes de mamão e avaliar a influência da alternância de temperatura e do envelhecimento acelerado na mobilização de reservas durante a germinação;

- Identificar genótipos de mamoeiro de maior desempenho inicial por meio de análises de diversidade e parâmetros genéticos relacionados às características físico-químicas e fisiológicas das sementes;

- Caracterizar os estresses induzidos por salinidade, restrição hídrica e elevada irradiância na germinação, e avaliar o desempenho germinativo de genótipos de mamoeiro a partir de testes de vigor nestes estresses;

- Investigar as características germinativas, vegetativas e reprodutivas do mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01, caracterizando o desempenho das gerações F₁ e F₂ e as relações entre as características avaliadas;

- Induzir a embriogênese somática *in vitro* de mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01, a partir de explantes juvenis e de plantas hermafroditas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DESCRIÇÃO BOTÂNICA DE *Carica papaya* L.

O mamoeiro (*Carica papaya* L., Caricaceae) possui centro de origem na Bacia Amazônica Superior e México (América Tropical), onde sua diversidade genética é máxima. Sua cultura foi disseminada para inúmeros países tropicais, em especial na Ásia e nas Américas (FRANCE, 2005; TEIXEIRA DA SILVA et al., 2007).

Carica papaya apresenta folhas lobadas (5-7 lóbulos), grandes (com diâmetro de 20-60 cm), com pecíolos compridos (até 125 cm), dispostos na posição terminal do tronco. Os botões florais e frutos surgem nas axilas foliares. O tronco é reto e pode apresentar de 1,5 a 4 m de altura; apresenta consistência polposa, sendo formado, predominantemente, por floema, e com pouco xilema secundário. É classificada como uma espécie herbácea-semilenhosa, de crescimento rápido (FRANCE, 2005).

É uma espécie diploide com $2n = 18$ cromossomos, alógama ou mista. Apresenta poligamia, com plantas masculinas (flores estaminadas), femininas (flores pistiladas) e bissexuais (flores hermafroditas). As plantas hermafroditas são as mais importantes em termos comerciais, apresentando flores com pedúnculo curto e menor, pétalas soldadas da base até a metade do seu comprimento, que resultam em frutos piriformes (FRANCE, 2005; TEIXEIRA DA SILVA, et al., 2007; DANTAS et al., 2013; ARYALA; MING, 2014).

O mamoeiro apresenta frutos do tipo baga, com forma ovalada, casca macia, amarela ou esverdeada, e polpa de cor laranja, doce e macia, com cavidade preenchida com sementes. As sementes são constituídas por endosperma e embrião, envoltos pela esclerotesta, uma camada rígida, preta e rugosa. Externamente a esta ocorre uma camada gelatinosa (arilo), chamada de

sarcotesta, a qual apresenta inibidores, que impedem a germinação prematura das sementes no interior do fruto (FRANCE, 2005; TEIXEIRA DA SILVA et al., 2007; BRASIL, 2009).

O fruto é consumido *in natura* e utilizado para a fabricação de doces e sucos. Além do sabor, é muito apreciado pelas suas características nutricionais, sendo rico em licopeno, potássio, vitamina C e minerais. Substâncias como a papaína, uma enzima proteolítica encontrada no fruto e outras partes do mamoeiro, são usadas industrialmente e na culinária. O mamão é utilizado, ainda, pela medicina tradicional para o tratamento de uma variedade de doenças (DANTAS et al., 2013).

Entre as suas propriedades farmacológicas, podem ser citadas as atividades antioxidantes, anti-hipertensiva, antifúngica, antiinflamatória, antitumoral, anti-helmíntica, hipoglicêmica, histamínica, e de hepatoproteção (VIJ; PRASHAR, 2015). Relatos científicos com base em estudos de cultura de células *in vitro* exploram o potencial de suas propriedades farmacológicas para o tratamento e a prevenção de câncer (NGUYEN et al., 2013).

A planta apresenta metabolismo C₃ e a sua resposta fotossintética é fortemente ligada às condições ambientais. O desenvolvimento vegetativo é adequado em regiões de alta insolação e com temperaturas variando de 21 a 33 °C. Devido a sua origem em ambientes tropicais, a espécie é sensível a baixas temperaturas, e os seus frutos se tornam insípidos quando amadurecem em períodos com temperatura subótimas (inferiores a 20 °C), além de apresentarem carpeloidia, mudanças de gênero e redução da viabilidade do pólen (FRANCE, 2005; CAMPOSTRINI; GLENN, 2007; TEIXEIRA DA SILVA et al., 2007; CARR, 2014).

2.2 A CULTURA DO MAMOEIRO

A cultura do mamoeiro representa uma importante atividade econômica para o Brasil, que se destaca como segundo maior produtor de mamão do mundo, depois da Índia. A área

cultivada em 2012 foi de 16,8 mil hectares, com uma produção de 1,85 milhões de toneladas, e um rendimento de 36,4 milhões de dólares em exportação. O estado do Espírito Santo contribui expressivamente com a produção nacional, sendo o maior estado exportador do país (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2013).

As variedades de mamoeiro cultivadas comercialmente pertencem aos grupos Solo e Formosa. As variedades do grupo Solo produzem frutos de tamanho menor, que são os preferidos para exportação. As cultivares deste grupo são, em geral, linhagens puras, enquanto as variedades do grupo Formosa são híbridos comerciais, e apresentam frutos maiores, sendo destinados ao mercado interno (DANTAS; OLIVEIRA, 2009; DANTAS et al., 2013).

Os principais destinos das exportações brasileiras são os países da União Europeia, em especial Países Baixos, Reino Unido, Portugal, Alemanha, além dos Estados Unidos e do Canadá. No entanto, o consumo *per capita* de mamão nos principais países importadores é inferior à média mundial, evidenciando que ainda existe um grande espaço para ampliação do consumo de mamão no mundo e, conseqüentemente, para a exportação (SIQUEIRA, 2003; SILVA et al., 2011).

O produto nacional é competitivo, porém, é necessário desenvolver estratégias para aumentar a qualidade do produto para o mercado interno, reduzir as perdas devido a problemas de armazenamento e transporte, além de aumentar as exportações. O aumento do consumo depende de iniciativas que proporcionem maior competitividade dos polos produtores brasileiros, maior produtividade, maior qualidade e tratamento de pós-colheita adequado, de forma a atender às exigências fitossanitárias dos países importadores, além de maior divulgação da fruta e o alcance de mercados, como o Mercosul e a Ásia (SIQUEIRA, 2003; ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2013).

2.3 MELHORAMENTO DO MAMOEIRO

No Brasil, a introdução de sementes melhoradas foi um marco no melhoramento genético de *C. papaya* no início da década de 70, quando foram importadas as primeiras sementes da cv. Sunrise Solo (EUA) e de híbridos do grupo Formosa (Taiwan) (RUGGIERO et al., 2011).

A partir da década de 80, as pesquisas foram direcionadas para o desenvolvimento de novas cultivares adaptadas às condições edafoclimáticas do Brasil, com ênfase à resistência a doenças. Surgiram novas tecnologias de produção, e novas cultivares foram desenvolvidas, como: ‘Sunrise Solo 72/12’ (1982); ‘Baixinho de Santa Amália’ (1986); ‘Grampola’ (1988); ‘Golden’ (1996); ‘Gran Golden’ (1997); ‘Sunrise Solo BSA’ (1998); ‘Golden MD2’ (2001); ‘UENF/Caliman 01’ (2001); ‘Golden THB’ (2004) e ‘Rubi Incaper 511’ (2011) (RUGGIERO et al., 2011).

O melhoramento tradicional baseia-se na seleção direta, que é a maneira mais fácil e prática de se obter ganhos para determinada característica de interesse, como produção. Todavia, há maior risco do surgimento de alterações indesejáveis em outras características importantes, devido à associação genética entre elas. Assim, a fim de aumentar as chances de sucesso, sugere-se a seleção simultânea de um conjunto de características importantes (CRUZ et al., 2004; DIAS et al., 2011).

Por conta disso, os estudos devem considerar a análise de multicaracterísticas e suas relações que, se forem exploradas adequadamente, podem conduzir a análises mais informativas e eficientes para avaliar os indivíduos, proporcionando uma visão holística de cada genótipo (CRUZ et al., 2004; 2011; FERREIRA, 2011). O conhecimento da variabilidade genética, da relação entre as características e da estimativa da sua herdabilidade são pré-requisitos fundamentais para o sucesso dos programas de melhoramento (MARIN et

al., 2006a, b; SILVA et al., 2007; 2008a; OLIVEIRA et al., 2010; DIAS et al., 2011; SCHMILDT et al., 2011; FERREIRA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2012a).

Com o avanço dos estudos em melhoramento do mamoeiro, têm ganhado destaques a avaliação de linhagens e híbridos quanto ao potencial agrônomo em diferentes ecossistemas, os estudos acerca do uso de marcadores moleculares na predição precoce do sexo em plantas e a avaliação de populações F2 de híbridos, visando à identificação de genótipos superiores (TRINDADE; DANTAS, 2009).

Além disso, as pesquisas têm objetivado antecipar a avaliação de características capazes de pressupor ganhos genéticos. Em teoria, a avaliação de características vegetativas e juvenis, como maior diâmetro do caule, pode predizer a maior produtividade (SILVA et al., 2007). O aumento do número de frutos pode ser predito pelo maior diâmetro da copa e pela diminuição da altura das plantas. A maior massa dos frutos está relacionada com maiores diâmetro do caule, tamanho do painel e comprimento dos frutos (FERREIRA et al., 2012). A altura da planta, o número de flores por pedúnculo e a largura da folha estão relacionados com o número de frutos, sendo características de fácil mensuração e que se manifestam antes da produção, o que as tornam indicadas para a seleção indireta (OLIVEIRA et al., 2010).

A produção de sementes de ótima qualidade, que reflitam em altas produtividades, também se destaca entre as demandas que estimulam as pesquisas em melhoramento de *C. papaya* (RUGGIERO et al., 2011). Enquanto as características agrônomicas relacionados à produção do mamoeiro são bem exploradas (DANTAS; LIMA, 2001; SILVA et al., 2007; 2008a; OLIVEIRA et al., 2010; SCHMILDT et al., 2011; FERREIRA et al., 2012; QUINTAL et al., 2012; RAMOS et al., 2012), as bases da qualidade fisiológica das sementes no melhoramento ainda são pouco investigadas (CARDOSO et al., 2009; MACEDO et al., 2013).

Assim, enfatiza-se a necessidade de pesquisas que levantem informações acerca da qualidade de sementes e do desenvolvimento inicial das mudas, avaliados quanto à divergência ou similaridade entre genótipos, permitindo identificar materiais de alto desempenho inicial (germinação e vigor), de interesse para pesquisas de melhoramento.

2.3.1 Diversidade genética e parâmetros genéticos na avaliação de genótipos com base na qualidade de sementes

O estudo da diversidade genética permite o agrupamento de materiais genéticos similares e/ou a separação de genótipos de destaque para determinadas características de interesse agrônômico. Além disso, estes estudos permitem identificar progenitores que, em futuros cruzamentos, possibilitem maior efeito heterótico. Logo, apresentam especial importância em programas de melhoramento que envolvam hibridações, como é o caso do mamoeiro (CRUZ et al., 2004; 2011).

Trabalhos sugerem que a divergência genética exerce influência sobre a germinação e o vigor de sementes de diferentes genótipos de mamoeiro. Logo, os parâmetros genéticos associados à qualidade fisiológica de sementes devem ser explorados buscando maior desempenho inicial durante o melhoramento de cultivares (CARDOSO et al., 2009; MACEDO et al., 2013).

Considerando os parâmetros genéticos relacionados à qualidade fisiológica de sementes de mamoeiro, Cardoso et al. (2009) observaram elevada divergência genética para as características massa de mil sementes, germinação, emergência, índice de velocidade de germinação e de emergência, e de desenvolvimento das plântulas, separando 30 genótipos em grupos de maior ou menor desempenho germinativo. Os altos valores dos coeficientes de correlação genotípica e das estimativas de herdabilidade ($\geq 90\%$) para massa de mil sementes,

comprimento da raiz primária, e massa das plântulas, sugeriram a possibilidade de ganhos expressivos no processo de seleção com base nestas características.

A maioria das características referente à qualidade das sementes de mamão apresenta alto coeficiente de determinação genotípica (H^2). Desta forma, a variabilidade genética relacionada aos parâmetros de qualidade fisiológica de sementes pode ser explorada a fim de obter maior desempenho germinativo no melhoramento de cultivares (MACEDO et al., 2013).

Estudos de diversidade genética com base na análise fisiológica de sementes foram realizados em outras espécies: em arroz foram identificados genótipos que expressam maior tolerância a baixas temperaturas durante a germinação (FREITAS et al., 2007); em soja foi possível identificar genótipos tolerantes ao excesso hídrico (OLIVEIRA et al., 2009); em feijão, genótipos com sementes de maior vigor (MAIA et al., 2011). Também foi verificada associação entre as características físicas (tamanho, forma e tegumento) e fisiológicas (germinação, tamanho das plântulas) de sementes de feijão (OLIVIO et al., 2011).

2.3.2 Linhagens e híbridos

As cultivares comerciais de mamoeiro são divididas em dois grupos heteróticos: grupo Solo, que compreende, em geral, linhagens puras; e grupo Formosa que são, em sua grande maioria, híbridos (DANTAS; OLIVEIRA, 2009; DANTAS et al., 2013).

A obtenção de sementes de linhagens puras a partir da autofecundação é uma técnica viável para o mamoeiro, resultando em materiais genéticos que apresentam estabilidade fenotípica. Estes genótipos podem ser utilizados *per se* nos sistemas de produção, ou na obtenção de híbridos comerciais (DANTAS; LIMA, 2001; DIAS et al., 2011).

Para garantir a qualidade das sementes de mamão Solo, os produtores devem levar em consideração a variabilidade genética da variedade e o tipo de reprodução, além de controlar estritamente a polinização (FRANCE, 2005). Como o mamoeiro apresenta plantas dioicas e

monoicas, a polinização aberta pode ocorrer, em especial, em áreas não comerciais, onde ocorrem plantas hermafroditas, femininas e masculinas. Com isso, observa-se uma série de alterações fenotípicas que resultam na perda de identidade das variedades melhoradas. Logo, o controle restrito dos cruzamentos deve ocorrer para a manutenção das características genéticas de uma cultivar (OLIVEIRA et al., 2012a).

Os híbridos comerciais são obtidos pelo cruzamento de parentais, os quais, geralmente, apresentam identificação mantida sob registro de patente. Assim, a produção de sementes pelo próprio produtor é dificultada, e o plantio com sementes das gerações F_2 , F_3 e F_4 dos híbridos não é recomendado (MARIN et al., 2001; 2006 a, b; DANTAS et al., 2013).

Nos híbridos, somente as plantas da geração F_1 (em heterose máxima) apresentam as características morfofisiológicas ideais de produção. Em milho (*Zea mays* L.), além do maior vigor vegetativo das plantas F_1 , observa-se que as sementes produzidas por elas (sementes F_2) são maiores, mais pesadas e em maior número. O plantio de sementes F_2 , no entanto, gera plantas que apresentam segregação para as características, e conseqüente perda do vigor híbrido (ANDRADE; PEREIRA, 2005). No mamoeiro híbrido Tainung 01, a segregação híbrida quanto à forma dos frutos foi observada na avaliação de plantas de gerações sucessivas (F_2 , F_3 e F_4) (MARIN et al., 2001).

A heterose representa a manifestação genética dos benefícios da hibridação. Com ela, a geração F_1 apresenta média superior aos pais com relação às características de interesse. Resultado do cruzamento entre parentais com genes contrastantes, a geração F_1 expressa a ação gênica complementar da heterozigose (BARELLI et al., 1998). A heterose é um efeito comum em genótipos de mamoeiro híbridos derivados de *pools* genéticos distintos, e cruzamentos dialélicos são sugeridos para obtenção de combinações híbridas promissoras (MARIN et al., 2006 a, b).

Embora os genótipos segregantes não sejam desejados em relação ao cultivo de mamoeiro, as gerações segregantes podem representar importante fonte de variabilidade genética para os programas de melhoramento do mamoeiro. O número reduzido de cultivares e, conseqüentemente, uma variabilidade genética restrita, representa uma problemática nos sistemas de produção do mamoeiro. Como resultado, a cultura torna-se mais vulnerável a doenças, pragas e estresses ambientais.

Sudha et al. (2013) realizaram estudo a fim de estimar o desempenho médio, os parâmetros genéticos que regem diferentes características, e a resistência ao vírus da mancha anelar (PRSV) em população F₂ de híbridos de *C. papaya* (cvs. Pusa Nanha, CP50 e Co7) x *Vasconcellea cauliflora*. Foram selecionadas plantas F₂ com desempenho satisfatório com relação aos parâmetros morfológicos e bioquímicos, ao rendimento, e a resposta de resistência ao PRSV. Assim, é necessária a observação das gerações segregantes com vistas à seleção de progenitores para o desenvolvimento de novas cultivares, o que pode garantir maior sustentabilidade à cultura do mamoeiro (SILVA et al., 2007, 2008a; DIAS et al., 2011).

Na Tabela 1 são apresentados os diferentes genótipos de *C. Papaya*, os quais foram objeto do presente estudo.

Tabela 1. Informações sobre os genótipos de *C. papaya* avaliados neste estudo

| Genótipo | Número de registro | País | Parentais | Grupo | Observação |
|--|---------------------------------|--------|---------------------|---------|---|
| UENF/Caliman 01 geração F ₂ | 12359 (RNC/Brasil) ¹ | Brasil | JS12 e Sunrise Solo | Formosa | Primeira geração segregante (F ₂) do híbrido. Características agronômicas superiores, e fenótipo predominante do grupo Formosa. ² |
| Golden | 26485 (RNC/Brasil) | Brasil | - | Solo | Linhagem pura. Maior parte do cultivo para exportação no país. ³ |
| Tainung 01 geração F ₂ | - | Taiwan | Não divulgado | Formosa | Primeira geração segregante (F ₂) do híbrido. Genótipo muito cultivado em diversos países. Maior parte do cultivo para consumo interno no país. |
| UENF/Caliman 01 | 12359 (RNC/Brasil) | Brasil | JS12 e Sunrise Solo | Formosa | Híbrido. Características agronômicas superiores, e fenótipo predominante do grupo Formosa. ² |
| Sunrise Solo | 05028 (RNC/Brasil) | Havaí | - | Solo | Linhagem pura. Genótipo muito cultivado em diversos países. ⁴ |
| Golden THB | 26459 (RNC/Brasil) | Brasil | Golden | Solo | Linhagem pura. Material selecionado a partir da cv. Golden, cultivo para exportação. |
| Híbrido Triplo | - | Brasil | - | - | Material em desenvolvimento (UENF e Caliman Agrícola S/A). |
| JS12 x Waimanalo | - | Brasil | JS12 e Waimanalo | - | Material em desenvolvimento (UENF e Caliman Agrícola S/A). Parental Waimanalo é tolerante à <i>Phytophthora</i> sp. ⁵ |

¹ **REGISTRO NACIONAL DE CULTIVARES.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasil. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/registros-autorizacoes/registro/registro-nacional-cultivares>. Acesso em 10 de dezembro de 2014.

² FERREGUETTI, G. A. Caliman 01 – o primeiro híbrido de mamão formosa brasileiro. In: Simpósio do papaia brasileiro, Papaya Brasil - qualidade do mamão para o mercado interno. **Anais...** Incaper, Vitória, ES, Brasil, 2003.

³ MARIN, S. L. D; GOMES, J. A. Técnicas do cultivo do mamão. In: Semana Internacional de Fruticultura e Agroindústria. **Anais...** Sindifruta – Frutal, Fortaleza, CE, Brasil, 2000.

⁴ LITZ, R. E Papaya. In: SHARP, R. W.; EVANS, D. A.; AMMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. (Eds.) **Handbook of plant cell culture.** New York: MacMillan, 1984, p. 349-368.

⁵ MANSHARDT, R. History and future of the Solo papaya. In: MING, R.; MOORE, P. H. (Eds.) **Genetics and genomics of papaya.** New York: Springer, v. 10, p. 95-113, 2014.

2.4 PROPAGAÇÃO DO MAMOEIRO

2.4.1 Propagação seminífera

A propagação seminífera é a mais utilizada em cultivos comerciais do mamoeiro, apresentando vantagens, como a praticidade de semeadura e técnicas bem estabelecidas (DANTAS et al., 2013). Entretanto, pode representar algumas desvantagens, como a disseminação de doenças, variabilidade genética e desconhecimento do sexo da planta propagada. Além disso, as sementes dos híbridos, como o Tainung 01, genótipo que ocupa grande parte dos plantios comerciais e mamão Formosa no Brasil, são importadas a elevado custo (RUGGIERO et al., 2011; DANTAS et al., 2013).

A produção de sementes para as variedades do grupo Solo pode ser realizada pelo próprio produtor, obtendo as sementes de frutos provenientes de flores autopolinizadas (plantas hermafroditas) (FRANCE, 2005). Porém, as sementes da maioria dos híbridos do grupo Formosa são produzidas a partir de parentais mantidos sob registro de patente, a exemplo dos híbridos Tainung 01 e UENF/Caliman 01 (DANTAS et al., 2013).

A propagação seminífera é realizada por semeadura em ambiente protegido. Dependendo do genótipo e das condições ambientais, a emergência inicia-se entre 4 e 21 dias, havendo estabilização entre 35 e 40 dias. As mudas são mantidas em estufa por um período de, aproximadamente, 60 dias após a emergência (FRANCE, 2005).

As sementes constituem o centro das alterações genéticas/evolutivas, sejam naturais ou induzidas pelos melhoristas. Elas cumprem papel importante na difusão das características genéticas incorporadas às variedades melhoradas e são co-responsáveis pela produtividade (MARCOS FILHO, 2005). A utilização de sementes de alta qualidade é fundamental para o estabelecimento de mudas vigorosas e saudáveis, por apresentarem um “padrão de excelência” de

um conjunto de características, que determinam o seu potencial de desempenho após a semeadura em campo. A qualidade fisiológica das sementes é caracterizada, principalmente, pela sua germinação e pelo seu vigor (POPINIGS, 1985; MARCOS FILHO, 2005).

A fim de padronizar as análises que avaliam a germinação e o vigor de sementes de mamoeiro, a Regra de Análises de Sementes (BRASIL, 2009) sugere que os testes de germinação em laboratório sejam feitos em substratos rolo de papel filtro ou entre areia, em temperaturas de 20; 25-30 ou 35 °C, e as contagens de germinação realizadas após sete e 30 dias. Entretanto, de acordo com Leonel et al. (1998), a alternância de temperatura de 20-30 °C favorece a germinação de sementes de mamão.

Sementes recém-colhidas têm germinação baixa e desuniforme. A remoção da sarcotesta, que pode ser realizada por fricção em areia ou peneira (SCHMILDT et al., 1993; TOKUHISA et al., 2007), aumenta consideravelmente a germinação. A secagem das sementes para níveis de umidade de 9 - 12 %, e o armazenamento a frio (≤ 15 °C) por 30 - 50 dias também favorecem o aumento da germinação. Nestas condições as sementes podem manter a viabilidade por até três anos (FRANCE, 2005; SARI et al., 2005; TEIXEIRA DA SILVA et al., 2007; BRASIL, 2009). A secagem em altas temperaturas (50 e 58 °C) pode favorecer a manutenção do vigor após o armazenamento, embora prejudique a germinação imediata (CARLESSO et al., 2009).

Sementes de mamão apresentam comportamento ortodoxo, cuja viabilidade durante o armazenamento é estendida com a redução do teor de água e da temperatura (BERBERT et al., 2008). Podem ser armazenadas sem refrigeração por 12 meses, com oito ou 11% de água, sem que haja alterações nos sistemas enzimáticos e prejuízos no vigor (DIAS et al., 2010).

Sementes de mamão recém-colhidas apresentam dormência pós-colheita, que é superada com o armazenamento (DIAS et al., 2010) ou com lavagem em água corrente por 24 h (BRASIL, 2009). A germinação lenta e irregular observada em sementes de mamão pode ser

atribuída à presença da sarcotesta, que contém compostos fenólicos, que são inibidores da germinação (TOKUHISA et al., 2007). A dormência tem relação, também, com a época de formação/colheita dos frutos. Sementes extraídas de frutos colhidos no inverno apresentam dormência pós-colheita, o que não ocorre com as sementes obtidas de frutos que amadurecem em épocas de temperaturas mais altas (TOKUHISA et al., 2008).

O estágio de maturação dos frutos interfere no potencial germinativo das sementes de mamão. As sementes extraídas de frutos no estágio cinco de maturação ($\geq 75\%$ da superfície do fruto amarela) apresentaram maior germinação do que aquelas oriundas de frutos no estágio três (50% da superfície do fruto amarela) (ZANOTTI et al., 2014).

A germinação de sementes de mamão sofre influência dos reguladores de crescimento. Bhattacharya e Khuspe (2001) avaliaram a germinação *ex vitro* e *in vitro* de 10 variedades de mamoeiro, e observaram que sementes não tratadas com reguladores apresentaram emergência média de 40,2%; as tratadas com 200 mg L⁻¹ de ácido giberélico (GA₃) por 24 h, 56,5% de emergência, enquanto a germinação *in vitro* (meio MS + 1 µM de thiadizuron (TDZ), em presença de luz, a 30 °C, por 6-7 dias) promoveu germinação de 95,5%.

A germinação e o estabelecimento de plântulas *in vitro* são facilitados pela remoção do tegumento e cultivo em meio contendo fibra de coco como material de suporte e suplementado com 0,5 mg L⁻¹ de 6-benziladenina (CHAUHAN et al., 2014).

O osmocondicionamento com concentrações de 200 a 1000 mg L⁻¹ de GA₃ favorece a germinação de sementes de mamão (LOPES; SOUZA, 2008; LOPES et al., 2009). A embebição em solução de KNO₃ nas concentrações entre 0,1 e 1 M, por uma hora, é um importante método de superação da dormência na germinação de sementes de mamão do grupo Formosa, resultando em médias de germinação três vezes maiores (TOKUHISA et al., 2007, ZANOTTI et al., 2014). Também é recomendado o GA₃ no substrato de germinação, na dosagem de 50 mg dm⁻³ (ZANOTTI et al., 2014).

Ainda, avaliando o potencial do uso de campo elétrico como uma ferramenta agrícola para aumentar a germinação das sementes, verificou-se que sementes de mamão cv. Eksotika II apresentaram maiores germinação, comprimentos da parte aérea e da raiz, massa seca, e conteúdos de proteína solúvel, de nitrogênio e de pigmentos fotossintetizantes, e maior atividade da peroxidase nos tratamentos com campo elétrico até 100 kV m^{-1} (BEE et al., 2014).

As respostas quanto à germinação e dormência variam com relação ao genótipo de *C. papaya* avaliado, o que é esperado, principalmente porque as sementes de cada genótipo apresentam especificidade com relação às características morfoanatômicas, à constituição química, assim como às respostas fisiológicas (MARCOS FILHO, 2005; SANTOS et al., 2009). Os fatores genéticos estão entre os principais responsáveis pela qualidade fisiológica das sementes, assim, diferentes variedades de uma mesma espécie podem apresentar diferente vigor genético e longevidade (POLLOCK; ROSS, 1972; POPINIGS, 1985).

Genótipos de mamoeiro apresentam elevada divergência genética para atributos relacionados à qualidade fisiológica de sementes (CARDOSO et al., 2009; MACEDO et al., 2013). Portanto, o melhoramento genético deve levar em consideração o desenvolvimento de cultivares que apresentem sementes de alta qualidade. Os estudos também devem incluir a seleção de genótipos que possuam sementes com maior potencial de armazenamento, e tolerância a estresses abióticos (MARCOS FILHO, 2005; CARDOSO et al., 2009; MELETTI et al., 2011; RUGGIERO et al., 2011).

2.4.2 Propagação clonal

Características genéticas de *C. papaya*, em especial relacionadas à expressão sexual e à variabilidade genética, conferem algumas desvantagens à propagação seminífera. Em cultivos

comerciais procede-se o plantio de três mudas por cova e, por ocasião do florescimento (cerca de cinco meses após o plantio), é realizada a sexagem das mudas, mantendo-se apenas uma planta hermafrodita. O mamoeiro inicia sua produção cerca de oito a dez meses após o plantio das mudas no campo. Assim, triplicam-se os custos com sementes e oneram-se os gastos com os tratos culturais, além de haver prejuízos para o crescimento das plantas, que sofrem com a competição (FERREIRA et al., 2011; DANTAS et al., 2013).

Em virtude desta problemática, grande esforço tem sido empregado a fim de determinar precocemente o sexo das plantas por meio de marcadores morfofisiológicos e moleculares (DEPUTY et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2007; ARANGO et al., 2009; COSTA et al., 2011), ou a fim de realizar a propagação clonal de plantas hermafroditas (CHAN-TAI et al., 2003; KUNG et al., 2010; KOEHLER et al., 2013).

Chan-Tai et al. (2003) avaliaram um mutante exclusivamente hermafrodita que, quando autofecundado, parece ser estável em seu fenótipo sexual. A indução de embriogênese somática a partir de segmentos de raízes adventícias de plantas hermafroditas, multiplicadas *in vitro*, possibilitou a regeneração de plantas que preservaram as características hermafroditas, o que foi confirmado por PCR e pelo fenótipo (flores e frutas) (KUNG et al., 2010). Um protocolo de embriogênese somática foi desenvolvido para o mamoeiro a partir de folhas de plantas hermafroditas (KOEHLER et al., 2013).

A propagação clonal do mamoeiro pode apresentar vantagens como maior uniformidade das plantas, frutificação precoce, menor altura das plantas e de inserção dos frutos (CHAN; TEO, 2002; FITCH et al., 2002; FRANCE, 2005). O mamoeiro pode ser propagado vegetativamente por estaquia, enxertia, e variações destas técnicas, como a minienxertia e microestaquia (FRANCE, 2005; NAVA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2014). E com o avanço das pesquisas em biotecnologia, as técnicas de propagação *in vitro*, como a organogênese e a embriogênese somática, apresentam-se cada vez mais promissoras.

A organogênese refere-se à diferenciação e formação de órgãos (raízes, parte aérea, brotações, flores) a partir de explantes cultivados *in vitro*, sendo um processo controlado por substâncias hormonais. A multiplicação e o enraizamento de plantas cultivadas *in vitro* são influenciados pelo teor de ágar, pela concentração de nutrientes e de sacarose no meio, pela intensidade da luz e, principalmente, pelos reguladores de crescimento. A formação de raízes é induzida com o uso de auxinas, enquanto a adição de citocininas ao meio de cultura induz ao desenvolvimento de parte aérea (formação de brotos e multiplicação) (GUERRA et al., 2006; CID, 2010).

Em mamoeiro híbrido Tainung 01, o uso de giberilina (GA_3) favorece o alongamento durante a fase de multiplicação *in vitro*, mas prejudica o enraizamento dos brotos propagados por microestaquia (OLIVEIRA et al., 2014). Durante a regeneração *in vitro* de três genótipos de mamoeiro do Quênia por meio da cultura de ápices caulinares, maior multiplicação foi observada com o uso de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de 6-benzilaminopurina (BAP) + $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de ácido naftalenoacético (ANA), e maior enraizamento foi observado com o uso de $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ de ácido indolbutírico (AIB) (MUMO et al., 2013).

A resposta organogênica *in vitro* do mamoeiro é genótipo-específica (RAJEEVAN; PANDEY, 1986; TEO; CHAN, 1994; YU et al., 2000; KABIR et al., 2007). Enquanto o mamoeiro híbrido Tainung 01 apresentou resposta positiva quanto à multiplicação e ao enraizamento *in vitro* (SCHMILDT et al., 2007a; b; c; 2009; FERREIRA et al., 2011), o mesmo não foi observado em mamoeiro cv. Sunrise (TEIXEIRA; TEIXEIRA, 2004).

O enraizamento *in vitro* das plântulas é uma das etapas mais importantes da propagação *in vitro* de *C. papaya*, representando um dos fatores limitantes do processo, com taxas de sobrevivência menores de 50%. Para a cv. Maradol, o uso de $3 \mu\text{M}$ de AIB é uma opção viável ao enraizamento *in vitro* de brotos (GUZMÁN et al., 2013). As cvs. Sunrise Solo e

Rainbow apresentaram melhores resultados para a rizogênese a partir de explantes foliares com o uso de 2 mg L^{-1} de ANA no meio de cultura (TEIXEIRA DA SILVA, 2013).

O enraizamento *in vitro* no mamoeiro híbrido Tainung 01 é favorecido pelo uso de auxina, a qual promove a formação de calos na base das plantas provenientes de microestacas. No entanto, as raízes provenientes desses calos não possuem conexões com o sistema vascular dos ramos (SCHMILDT et al., 2010), o que pode comprometer o processo de aclimação.

De um modo geral, o enraizamento e a aclimação são pontos críticos, podendo ser um entrave para o sucesso da propagação *in vitro* via organogênese (YU et al., 2000; SCHMILDT et al., 2007a, b; 2009; 2010; FERREIRA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2014).

A embriogênese somática permite a propagação de grande quantidade de clones. E desde que não haja problemas de ordem fisiológica e estrutural, os embriões formados seguem um processo adequado de morfogênese (formação de parte aérea e raízes), dando origem a plântulas com todas as estruturas bem formadas, que são enraizadas e aclimatizadas adequadamente (GUERRA et al., 2006; CID, 2010). Em mamoeiro, além da propagação de um grande número de clones, a embriogênese somática representa uma ferramenta para diversas aplicações da biotecnologia vegetal, como a produção de sementes artificiais e regeneração de plantas transgênicas (BUKHORI et al., 2013; JESUS, 2013).

Pesquisas com variedades de *C. papaya* sugerem que a espécie apresenta competência para a embriogênese somática, mas as respostas apresentam variação com relação ao genótipo, especialmente quanto ao tipo de explante e aos tipos e às concentrações de reguladores de crescimento.

O meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), completo ou meia força, é o mais utilizado, e a fonte de carboidrato mais utilizada para os processos de iniciação e diferenciação é a sacarose na concentração de 3% (ALMEIDA et al., 2000; 2001; KOEHLER; 2004; RENUKDas et al., 2004; SAHA et al., 2004; ASCENCIO-CABRAL et al., 2008;

FARZANA et al., 2008; KUNG et al., 2010; MALABADI et al., 2011; DETONI et al., 2013; JESUS, 2013; KOEHLER et al., 2013, BOFF, 2014; CHAGAS, 2014).

Com relação ao estado físico do meio de cultura, o uso de meio semissólido favorece a obtenção de plântulas de mamoeiro sem hiperhidricidade. O processo de indução e iniciação de embriões somáticos é realizado no escuro, enquanto na maturação e germinação dos embriões é empregada luz (CASTILLO et al., 1998; ALMEIDA et al., 2001; KOEHLER, 2004; RENUKDAS et al., 2004; ASCENCIO-CABRAL et al., 2008; ABREU, 2010; KUNG et al., 2010; MALABADI et al., 2011; JESUS, 2013; DETONI, 2013).

As informações relacionadas à influência do tipo de explante são contraditórias ou, ainda, extremamente específicas para cada genótipo em estudo. Alguns trabalhos com mamão obtiveram sucesso com o uso de embriões imaturos (KOEHLER, 2004; RENUKDAS et al., 2004; SUTANTO; AZIZ, 2006; FARZANA et al., 2008; ABREU, 2010; MALABADI et al., 2011; BUKHORI et al., 2013; JESUS, 2013; HERINGER et al., 2013; VALLE et al., 2014), e também com a utilização de hipocótilos e folhas cotiledonares de material germinado *in vitro* (ALMEIDA et al., 2000; 2001; FARZANA et al., 2008; DETONI, 2013; CHAGAS, 2014), segmentos de folhas jovens obtidos *ex vitro* (FARZANA et al., 2008), segmentos de raiz (KUNG et al., 2010), de pecíolo (SAHA et al., 2004) e de folhas de plantas hermafroditas (KOEHLER et al., 2013).

As auxinas estão envolvidas com a indução e a iniciação da embriogênese somática na maioria das espécies (GUERRA et al., 2006; CID, 2010). Em *C. papaya*, a indução ou iniciação é obtida com concentração relativamente elevada de 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), 4-clorofenoxiacético (CPA), ou ácido naftalenoacético (ANA) (ALMEIDA et al., 2000; SAHA et al., 2004; FARZANA et al., 2008; ABREU, 2010; MALABADI et al., 2011; BUKHORI et al., 2013; DETONI, 2013; JESUS, 2013; KOEHLER et al., 2013; HERINGER

et al., 2013; CHAGAS, 2014; VALLE et al., 2014), ou ainda com a combinação de elevada concentração de auxina com baixa concentração de citocinina (SUTANTO; AZIZ, 2006).

O desenvolvimento subsequente dos embriões somáticos ocorre após a transferência do calo ou suspensão celular para um meio com baixa concentração ou isento de auxinas. Nesta etapa, pode ser empregado o carvão ativado como agente de purificação (DETONI et al., 2013; JESUS, 2013; KOEHLER et al., 2013), e o polietilenoglicol (PEG) como agente osmótico para a maturação (HERINGER et al., 2013; KOEHLER et al., 2013; VALLE et al., 2014).

O ácido abscísico (ABA) influencia no processo de embriogênese somática impedindo o avanço dos estádios precoces aos tardios, favorecendo a produção de embriões somáticos normais (AMMIRATO, 1993), aumentando a frequência de embriões somáticos produzidos e a sua conversão em plantas (SAHA et al., 2004; ABREU, 2010; DETONI, 2013; KOEHLER et al., 2013).

O ácido indolbutírico (AIB) e o ácido giberélico (GA_3) também têm sido utilizados para a conversão de embriões somáticos em plantas, estimulando a rizogênese. O meio MS com 1 mg L^{-1} de GA_3 e de AIB foi o mais recomendado para o alongamento e enraizamento das plântulas regeneradas a partir de embriões somáticos de mamoeiro, cv. Baixinho de Santa Amália (ALMEIDA et al., 2000).

Ainda, a suplementação do meio com $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP e de ANA promoveu a germinação de embriões somáticos de mamoeiro cv. Eksotika. O alongamento e o enraizamento destas foram obtidos com $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de AIB, permitindo o sucesso da aclimatização (BUKHORI et al., 2013). Já para a germinação de embriões somáticos em mamoeiro cv. Golden foi recomendado o GA_3 (ABREU, 2010).

Recentemente, Heringer et al. (2013) apresentaram um protocolo de embriogênese somática para o híbrido UENF/Caliman 01 a partir de embriões zigóticos imaturos como

explante inicial, elucidando os efeitos da sacarose e do ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) sobre a indução, e do polietilenoglicol (PEG) sobre a maturação de embriões somáticos. Estes autores observaram que a combinação de 30 g L⁻¹ de sacarose com 20 µM de 2,4-D resultou nas maiores taxas de indução, enquanto 60 g L⁻¹ de PEG levou a maior conversão de embriões somáticos em plântulas. Ainda, adição de PEG ao meio resultou no aumento da síntese de proteínas, e a expressão diferencial de três proteínas (enolase, esterases e álcool desidrogenase 3), as quais podem desempenhar um papel importante no processo de amadurecimento de embriões somáticos de mamoeiro. Estas proteínas poderiam ser utilizadas como biomarcadores de embriogênese somática em mamoeiro, conduzindo à otimização de protocolos para permitir o uso da biotecnologia para a propagação *in vitro* da espécie (VALLE et al., 2014).

A indução e a modulação da embriogênese somática e da organogênese *in vitro* são controladas por estímulos fisiológicos, fatores ambientais e componentes químicos (GUERRA et al., 2006; CID, 2010; VALLE et al., 2014), e apresentam especificidade com relação ao genótipo e ao explante inicial utilizado. Assim, existe uma grande demanda para a validação e adequação dos protocolos para a propagação *in vitro* do mamoeiro, o que pode contribuir com estudos de genética, fitopatologia, fisiologia vegetal, promover a fixação de materiais transgênicos ou de plantas hermafroditas, e propagar genótipos superiores selecionados pelos estudos de melhoramento genético.

2.5 ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA PROPAGAÇÃO DO MAMOEIRO

Conforme exposto, a propagação de mamoeiro para cultivos comerciais é realizada por meio de sementes. A formação das sementes e a germinação seguem uma sequência ordenada de eventos, que compreendem a divisão e a diferenciação celular, o acúmulo de reservas, a

desidratação (maturidade fisiológica) e posterior re-hidratação (embebição e início da germinação), a respiração e reativação do metabolismo, com a mobilização de reservas, o alongamento e a divisão celular, e o desenvolvimento da plântula (final da germinação) (FERREIRA; BORGHETTI, 2004). Para tanto, há alguns aspectos quanto a absorção de água, constituição bioquímica das sementes e mobilização de reservas durante a germinação, testes de germinação e vigor e respostas a estresses que merecem destaque.

2.5.1 Embebição de sementes e fases de absorção e água na germinação

As sementes ortodoxas, como é o caso do mamoeiro, completam sua maturação com a dessecação, apresentando conteúdo de água entre 5 e 10 % de sua massa fresca. Nessa condição, a atividade metabólica é muito reduzida, devendo ocorrer reabsorção de água para que a germinação ocorra (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Entre os diferentes fatores que restringem a germinação, o principal é a água, que é fundamental para a germinação por promover a atividade enzimática, a solubilização e o transporte de reservas, atuar como reagente nas reações de hidrólise (MARCOS FILHO, 2005) e desencadear a sinalização em nível molecular que induz ao processo germinativo (MAYER; POLJAKOFF-MAYBER, 1989; FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Bewley e Black (1994) propuseram um padrão trifásico de absorção de água durante a germinação. A fase I da absorção é, geralmente, um processo físico, dirigido pela diferença de potencial hídrico entre o meio e as células das sementes. Durante a fase I, quando a sementes atingem cerca de 20% de água, inicia-se a respiração e a produção de ATP. Com aproximadamente 40% de água, inicia-se a síntese de mRNA e o reparo de DNA, a síntese de polissomos e de proteínas (BEWLEY; BLACK, 1994; FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Quando as células atingem a hidratação plena, o conteúdo de água na semente atinge um platô. Esse é um período de preparo para a reativação do metabolismo, chamado de fase II. Ocorre uma “pausa” da respiração devido à exaustão dos substratos, que confere a necessidade de síntese de hexoses para dar suporte a subsequente formação de enzimas, RNA e DNA. Ao atingir 50% de água, inicia-se a duplicação de DNA, a degradação de reservas e o alongamento celular. Simultaneamente ocorre a translocação de reservas (aminoácidos, sacarose e ATP) dos cotilédones para o eixo embrionário. A fase II culmina com a protrusão da raiz primária o que, para muitas espécies, acontece com teor de água próximo de 60%. Neste ponto há o início da fase III, com um novo aumento na embebição, associado ao crescimento do embrião (divisão celular) (FERREIRA; BORGHETTI, 2004; MARCOS FILHO, 2005).

A duração das diferentes fases da germinação depende muito da temperatura (FERREIRA; BORGHETTI, 2004). Em geral, para as espécies cultivadas, a primeira fase ocorre pelo período de 8 a 16 horas, quando surgem os primeiros sinais da reativação do metabolismo. A fase II pode durar de 8 a 10 vezes o tempo da fase I. Algumas espécies, no entanto, não apresentam a fase estacionária na absorção de água (fase II) (MARCOS FILHO, 2005).

A passagem da fase II para a fase III é um ponto sem retorno, no qual a semente perde a capacidade de tolerar a dessecação. Neste momento, a maioria das células da semente encontra-se na fase G₂ do seu ciclo, preparando-se para a divisão celular. Este é um dos estádios mais críticos no ciclo de vida da planta, no qual ela não pode sofrer estresse por deficiência hídrica ao preço de interromper definitivamente a germinação (FERREIRA; BORGHETTI, 2004; MARCOS FILHO, 2005).

Assim, o conhecimento sobre a tolerância à desidratação durante a germinação é fundamental para a tomada de decisões no manejo da cultura. Ainda, a identificação da

duração de cada fase também é relevante para os estudos da mobilização de reservas e do osmocondicionamento visando à superação de dormência e o armazenamento. No entanto, não são relatados na literatura estudos sobre o padrão de absorção de água durante a germinação de sementes de *C. papaya*.

2.5.2 Constituição bioquímica das sementes e mobilização de reservas durante a germinação

A composição bioquímica das sementes pode apresentar alterações com relação ao genótipo e às condições climáticas e práticas culturais durante a sua formação. Apresenta, em geral, a mesma variação qualitativa de componentes encontrada em outros órgãos da planta. No entanto, variações quantitativas são acentuadas, especialmente, com relação a lipídios e proteínas (MARCOS FILHO, 2005).

O endosperma de sementes de mamão é rico em lipídios e proteínas (camadas de aleurona), enquanto os cotilédones e o eixo embrionário contêm mais grânulos de amido e menos lipídios (SANTOS et al., 2009). Em geral, espécies com sementes que apresentam alto teor de proteínas, como *C. papaya*, irão formar órgãos fotossintetizantes ricos em nitrogênio, e apresentam estratégia de rápido crescimento (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Durante a germinação, a mobilização das reservas armazenadas permite a retomada do crescimento embrionário, dando origem a uma plântula. A princípio, a plântula se desenvolve às expensas das reservas do endosperma ou dos cotilédones. Logo, as reservas da semente têm a função de promover a manutenção e o desenvolvimento do embrião até a formação da plântula autotrófica (FERREIRA; BORGHETTI, 2004; MARCOS FILHO, 2005; NONOGAKIA et al., 2010).

A mobilização consiste na quebra das reservas e na síntese de novos compostos. A quebra das reservas é um processo de hidrólise das macromoléculas em compostos solúveis e

difusíveis, que possam ser transferidos até os pontos de crescimento do embrião para a formação de novos protoplasmas e paredes celulares. As sementes apresentam dois grupos de compostos de reserva: os energéticos do início da germinação – sacarose e oligossacarídeos da série da rafinose; e aqueles usados para o crescimento das plantas – amido, lipídios e proteínas.

No início da germinação, muita energia é gasta com reparo aos danos causados pela desidratação, como danos às membranas e aos ácidos nucleicos. Os substratos iniciais utilizados na germinação são os açúcares solúveis. Mas, para muitas sementes, a maior parte da energia para a germinação advém da quebra de amido e lipídios em sacarose (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Entre os açúcares solúveis, a sacarose e os oligossacarídeos da série da rafinose apresentam função primária de fonte de C, e função secundária como osmorreguladores. Em geral, de 2 a 5% da reserva das sementes são sacarose ou rafinoses, que são rapidamente degradadas quando há o início da hidratação dos tecidos. Sua degradação é dependente das enzimas invertase e alfa-galactosidase, que hidrolisam a sacarose e os oligossacarídeos, respectivamente, liberando glucose e frutose (FERREIRA; BORGHETTI, 2004; MARCOS FILHO, 2005).

Os polissacarídeos de reserva de parede são açúcares insolúveis utilizados como fonte de C para o desenvolvimento da plântula, e apresentam como função secundária o controle da embebição durante a germinação. Podem ser hidrolisados aos seus monossacarídeos constituintes, que são metabolizados à sacarose, usada como fonte de energia. Os mecanismos de degradação e controle destes compostos são, em grande parte, análogos ao amido (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

O amido é um polissacarídeo insolúvel que representa a principal substância armazenada nos vegetais. É depositado em amiloplastos na forma de amilose ou

amilopectinas, sendo fonte de C usada, principalmente, no desenvolvimento do embrião e da plântula (MARCOS FILHO, 2005).

O amido é quebrado em maltose e glucose por ação da alfa e beta-amilase e da amido fosforilase. A alfa-amilase é a única capaz de atacar diretamente o grão de amido (inicia o processo), sendo produzida durante a germinação pela camada de aleurona ou pelo escutelo. Sua síntese dependente da disponibilidade de ácido giberélico, que é produzido pelo eixo-embrionário. Nas eudicotiledôneas, o sistema de mobilização de amido é acoplado ao metabolismo da sacarose. Os produtos da degradação do amido (maltose e glucose) podem ser destinados à produção de sacarose ou à respiração (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Os lipídios são fonte de C e atuam durante o início da germinação e no desenvolvimento da plântula. São acumulados nas sementes em forma de triglicérides e armazenados em corpos lipídicos (glioxissomos). Sua hidrólise em glicerol e ácidos graxos livres ocorre pela ação das lipases, sintetizadas durante a germinação. O glicerol serve como fonte de C para a síntese de glucose. A degradação dos ácidos graxos em acetilCoA, que ocorre nos glioxissomos, permite sua utilização na respiração e geração de ATP, ou na neoglicogênese (formação de hexoses). Os glioxissomos só se tornam verdadeiramente funcionais durante a germinação. Por conta disso, os lipídios não representam as primeiras reservas a serem mobilizadas. Entretanto, são a fonte de energia mais eficiente durante a germinação (POPINIGIS, 1985; MAYER; POLJAKOFF-MAYBER, 1989; FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Os principais ácidos graxos em sementes são os insaturados, destacando-se o ácido oleico, o linoleico e o linolênico (POPINIGIS, 1985; MAYER; POLJAKOFF-MAYBER, 1989). Os fosfolipídios polares (constituintes da membrana plasmática) são muito importantes no processo germinativo, principalmente porque a manutenção da integridade de membrana interfere nos padrões de absorção de água e reativação do metabolismo. Os lipídios também

são importantes fatores na tolerância ao estresse, em especial à dessecação (MARCOS FILHO, 2005).

O metabolismo de lipídios tem relação com a viabilidade das sementes durante o armazenamento, sendo que a associação da porcentagem de emergência de plântulas com a peroxidação lipídica de sementes permite avaliar a viabilidade de sementes após o armazenamento (OLIVEIRA et al., 2012b).

As proteínas estão relacionadas a inúmeras reações fisiológicas, com função estrutural, de sinalização e transporte, energética e enzimática. São compostos orgânicos constituídos pela combinação de vários aminoácidos, que apresentam uma carboxila e um grupo amínico ligados a um mesmo átomo de carbono (MAYER; POLJAKOFF-MAYBER, 1989). Destacam-se como únicos compostos de reserva em sementes que, além de possuírem N e aminoácidos, armazenam C e S, sendo essenciais e não substituíveis (FERREIRA; BORGHETTI, 2004). Também são necessárias na fase inicial do desenvolvimento das plântulas, quando estas não são capazes de absorver nitrato pelas raízes (POPINIGIS, 1985).

Durante a germinação, proteínas metabolicamente inativas (reserva) armazenadas em grãos de aleurona (albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas) são utilizadas na formação de novos tecidos em pontos de crescimento do embrião. A hidrólise é mediada por proteases, sintetizadas na camada de aleurona. Os aminoácidos resultantes são convertidos a amidas, transportadas para o eixo embrionário em crescimento. As proteínas metabolicamente ativas (enzimas) aceleram reações de digestão e assimilação de nutrientes ou participam do processo respiratório (BEWLEY; BLACK, 1994; FERREIRA; BORGHETTI, 2004; MARCOS FILHO, 2005).

Embora haja informações sobre a constituição bioquímica (SANTOS et al., 2009) e alterações desta em resposta a presença de reguladores de crescimento (ZANOTTI et al., 2014), não são relatados estudos sobre a mobilização de reservas de sementes de *C. papaya*

durante as fases da germinação, nem sob influência de fatores ambientais como temperatura e envelhecimento.

2.5.3 Testes de germinação e vigor

A qualidade fisiológica das sementes pode ser determinada por meio de testes de germinação, os quais fornecem informações sobre a germinabilidade sob condições ambientais ótimas e/ou adversas. Os testes de germinação, realizados em laboratório, inferem sobre a probabilidade de um genótipo apresentar desempenho eficiente em campo. Apresenta alto grau de padronização e é considerado eficiente para fornecer informações sobre o potencial de uma amostra representativa de um lote, para germinar sob condições ambientais ótimas (germinação máxima). No entanto, estes testes podem superestimar o potencial de desempenho das sementes (POPINIGS, 1985; MARCOS FILHO, 2005; BRASIL, 2009).

O vigor de sementes é um índice fisiológico determinado pelo genótipo e modificado pelo ambiente, e sua avaliação é eficiente para caracterização do desempenho de sementes sob condições de estresse (POPINIGS, 1985; MARCOS FILHO, 2005). Logo, a análise do vigor compreende um conjunto de testes que objetivam identificar diferenças fisiológicas entre lotes e materiais genéticos ou tolerância a estresses.

Os testes de vigor são classificados em: testes físicos, que avaliam aspectos morfométricos e características físicas das sementes; testes fisiológicos, que avaliam a atividade fisiológica específica, como a germinação; testes bioquímicos, que avaliam alterações bioquímicas e sua associação com vigor; e testes de resistência a estresse, que avaliam o desempenho de sementes expostas a condições desfavoráveis do ambiente, como teste de frio (MARCOS FILHO, 2005).

A influência do genótipo sobre o comportamento fisiológico das sementes é consenso na comunidade científica. Assim, diferencia-se “vigor genético” de “vigor fisiológico”, sendo o primeiro atribuído ao vigor entre dois genótipos ou linhagens, e o segundo, aquele observado entre lotes de um mesmo genótipo (POLLOCK; ROSS, 1972).

O resultado dos testes de vigor é comparativo, ou seja, compara-se o vigor entre amostras de um mesmo genótipo (vigor fisiológico), ou entre genótipos de uma espécie (vigor genético). É necessária a atenção com as conclusões obtidas, principalmente porque um resultado de 85% de germinação em um teste de frio, não se traduz como “85% das sementes irão germinar e sobreviver no campo sob baixa temperatura”, mas sim que “as sementes avaliadas têm maior probabilidade de apresentar maior desempenho em campo sob este tipo de estresse” (MARCOS FILHO, 2005).

Existem vários métodos descritos para a avaliação do vigor, mas nenhum padronizado para todas as espécies vegetais. Sendo assim, é necessária a adequação de um método, ou avaliação de diferentes métodos simultaneamente. Os mais simples e mais utilizados são os que associam a velocidade de germinação (índice de velocidade de germinação, tempo médio de germinação, primeira contagem de germinação), com a análise das plântulas (MACEDO et al., 2013).

2.5.4 Ação de estresses abióticos durante a germinação e o desenvolvimento do mamoeiro

Os estresses abióticos, como temperatura, salinidade e seca, tendem a reduzir a produtividade de diversas culturas. Estresse é uma condição adversa que inibe o funcionamento normal de sistemas biológicos (MAHAJAN; TUTEJA, 2005). O estresse nas plantas é acompanhado pela inibição do crescimento, sendo que o metabolismo celular é redirecionado para a biossíntese de novos componentes celulares a fim de restabelecer a sua

homeostase, que permite a aclimação (ROBERT-SEILANIANZ et al., 2010; KOSOVÁA et al., 2011).

A aclimação aos estresses (tolerância/resistência) resulta de eventos integrados que ocorrem em todos os níveis de organização, desde o morfológico, anatômico, celular e bioquímico ao molecular (KOSOVÁA et al., 2011).

A homeostase bioquímica é bastante complexa, e representa os ajustes metabólicos necessários para que o organismo possa manter-se funcional. Em resposta ao estresse salino, por exemplo, a atividade de certas enzimas é aumentada, a de outras é diminuída e novas enzimas podem ser sintetizadas, o que requer um controle coordenado da percepção e transdução do sinal, e da síntese e degradação das proteínas. O equilíbrio ou desequilíbrio da homeostase resulta em plantas tolerantes ou susceptíveis ao estresse (MUNNS; TESTER, 2009).

O mamoeiro é sensível a diferentes estresses, como temperatura extrema, seca, ventos, injúrias e doenças virais, em especial durante a fase reprodutiva. Os seus estômatos (e os processos fotossintéticos) são sensíveis às mudanças no déficit de saturação de umidade do ar e também respondem rapidamente às mudanças nas condições de luz (CARR, 2014). Estes estresses podem causar perdas econômicas graves na cadeia produtiva do mamoeiro. Surge, assim, uma demanda para a identificação e/ou o desenvolvimento de variedades tolerantes.

Nas pesquisas sobre as respostas das plantas a estresses ambientais, a investigação da regulação gênica em nível transcricional tem ganhado destaque (PAN; JIANG, 2014). Estes autores detectaram o perfil de expressão de fatores de transcrição associados a respostas do mamoeiro a diferentes estresses, fornecendo informações úteis na identificação de genes candidatos para o desenvolvimento de variedades transgênicas de mamão tolerantes a diferentes estresses.

Estudos acerca das respostas fisiológicas do mamoeiro a estresses vêm ganhando destaque, em especial em detrimento de estresses osmótico, hídrico, salino, alterações de temperatura e luminosidade durante seu desenvolvimento vegetativo e reprodutivo. No entanto, ainda são escassos os estudos sobre as resposta a estresses durante a germinação.

Estresses osmóticos, como salinidade e restrição hídrica, causam desidratação e induzem a profundas alterações no metabolismo do carbono (cadeia de transporte de elétrons e ciclo de Calvin) e, assim, interferem no metabolismo dos carboidratos. A falta de água também resulta no aumento de componentes osmóticos (prolina e açúcares) e hidrofílicos (proteínas LEA - *late embryogenesis accumulated*) (KOSOVÁA et al., 2011; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Investigando as respostas de mamoeiro ao estresse hídrico, Mahouachi et al. (2007; 2012) verificaram o acúmulo de ácido abscísico (ABA), ácido jasmônico (JA) e prolina, e a redução das taxas fotossintética e de transpiração, da condutância estomática e do crescimento das folhas. Ainda, sob estresse hídrico, o mamoeiro apresenta acúmulo de íons sódio, potássio e cloreto, sugerindo ajustamento osmótico (MAHOUACHI et al., 2006).

Algumas variedades de mamoeiro apresentam ajustamento osmótico como fator que contribui para a aclimatação à seca, como é o caso do mamoeiro cv. Baixinho de Santa Amália. Já a cv. Golden e o híbrido UENF/Caliman 01 apresentam redução do teor de clorofila, da condutância estomática e da eficiência fotoquímica quando cultivadas sob déficits hídricos moderados ou severos. A cv. Lady Red apresenta redução de 50% nas taxas fotossintéticas sob restrição hídrica (CAMPOSTRINI et al., 2001; CAMPOSTRINI; GLENN, 2007).

Nas sementes, a desidratação pode causar alterações irreversíveis nas propriedades físicas das membranas, como mudanças estruturais, favorecer o acúmulo de vários produtos

resultantes da peroxidação de lipídios, alterar a composição dos ácidos graxos e degradar fosfolipídios (COOLBEAR, 1995).

A conformação normal dos fosfolipídios e das proteínas, a qual mantém a permeabilidade seletiva das membranas, depende de teor de água superior a 25%. Quando o teor de água é inferior, há redistribuição das moléculas e perda da seletividade, o que permite a livre passagem de moléculas que não atravessariam a membrana normalmente, causando a lixiviação de solutos (MARCOS FILHO, 2005). A desidratação das sementes é comum na maturidade fisiológica, no entanto, quando a restrição hídrica é imposta durante a germinação, pode comprometer e até impedir a continuidade do processo.

O estresse por restrição hídrica na germinação pode ser induzido por agentes osmóticos ou sais, os quais associam a este o efeito adicional de estresse salino. Ao simular a deficiência de água no início da germinação em sementes de feijão utilizando manitol, CaCl_2 , MgCl_2 e NaCl , identificou-se maior drasticidade com o uso do NaCl , quando foi observada a redução de proteínas de baixo peso molecular (COELHO et al., 2010). Sementes de trigo submetidas a estresse salino na germinação apresentaram redução dos teores de carboidratos solúveis totais e redutores, de proteínas e da atividade da beta-amilase. O conteúdo de amido, porém, apresentou aumento com o incremento da salinidade (SILVA et al., 2008b).

O envelhecimento acelerado (EA) de sementes, proposto para estudar a viabilidade de sementes durante o armazenamento, simula uma condição de estresse induzido por elevada umidade e temperatura, que aceleram a sua deterioração (DELOUCHE; BASKIN, 1973; MARCOS FILHO, 2005). O EA apresenta associação com redução na síntese de proteínas (ABDUL-BAKI; ANDERSON, 1972), atraso progressivo do início da germinação e decréscimo de incorporação de metionina em proteínas solúveis de embriões hidratados (DELL'AQUILA, 1994).

Com o processo de envelhecimento ocorre aumento na peroxidação de lipídios, que culmina com danos à membrana e geração de subprodutos tóxicos (SCHWEMBER; BRADFORD 2010); ocorre diminuição da atividade das enzimas antioxidantes, resultando em menor viabilidade e vigor das sementes (CHAUHAN et al., 2011).

Este estresse causa alterações no metabolismo de açúcares solúveis e de enzimas antioxidantes em sementes de amendoim (*Arachis hypogaea*). Sementes submetidas ao EA apresentaram redução da razão entre açúcares não redutores/açúcares redutores, aumento da produção de superóxido, redução das enzimas antioxidantes (ROS-limpeza), como superóxido dismutase e catalase, e do conteúdo de ATP. Logo, a viabilidade de sementes após o EA está associada às mudanças no teor de açúcares solúveis e de oxigênio reativo (ZHU; CHEN, 2007).

Em sementes de trigo (*Triticum aestivum*) submetidas ao envelhecimento artificial foram observados redução no vigor, que foi associado à redução da atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase, e aumento na relação rafinose/sacarose, em função do processo de deterioração das sementes (LEHNER et al., 2008).

Temperaturas extremas estão associadas com o aumento de alterações conformacionais das proteínas funcionais (desnaturação). Assim, observa-se o aumento da quantidade de vários tipos de proteínas de choque térmico (HSPs) e chaperoninas, que têm como função a restauração de proteínas parcialmente desnaturadas pelo calor (termoestabilização) (KOSOVÁA et al., 2011).

Plantas submetidas a estresse por elevada irradiância apresentam maior risco de apresentar fotoinibição, danos oxidativos, e formação de espécies reativas de oxigênio (ROS). Em resposta ao acúmulo destas substâncias, a planta também produz enzimas de ROS-limpeza, proporcionando a desintoxicação das plantas (KOSOVÁA et al., 2011).

A luminosidade geralmente está associada a variações de temperatura, restrição hídrica e limitação da difusão de CO₂. Estes fatores ambientais afetam profundamente os processos fotossintéticos do mamoeiro e, conseqüentemente, a produção de mudas em estufas e o plantio no campo (CAMPOSTRINI; GLENN, 2007; TAIZ; ZEIGER, 2013).

A elevada irradiância prejudica a emergência, enquanto a baixa irradiância prejudica o desenvolvimento das mudas de mamoeiro. A irradiância intermediária (entre 130 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 580 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) é adequada ao desenvolvimento das mudas até os 120 dias após a semeadura (MENGARDA et al., 2014).

Há uma variação genética da resposta do mamoeiro em relação às condições de luminosidade. A cv. Golden, por apresentar baixo conteúdo foliar de clorofila em comparação com outras cultivares, como as cvs. JS12, Solo7212, e os híbridos Tainung 01 e UENF/Caliman 01, pode aumentar substancialmente a reflexão da luz e reduzir a temperatura da folha sob condições de elevada luminosidade, evitando a fotoinibição da fotossíntese (CAMPOSTRINI; GLENN, 2007). Durante a emergência e o desenvolvimento inicial, a cv. Golden THB é mais sensível à elevada irradiância, enquanto os híbridos UENF/Caliman 01 e JS12 x Waimanalo toleraram esta condição (MENGARDA et al., 2014).

Como as respostas fisiológicas do mamoeiro estão sob regulação de fatores genéticos, o avanço dos conhecimentos que relacionam a fisiologia com a genômica funcional, pode representar ganhos na produtividade, adaptabilidade e estabilidade de novas cultivares obtidas pelo melhoramento, com fenótipos adaptados às variações climáticas (CAMPOSTRINI; GLENN, 2007).

3 REFERÊNCIAS

ABDUL-BAKI, A. A.; ANDERSON, J. D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOZLOWSKI, T. T. **Seed Biology**. New York: Academic Press, 1972. v. 2, p. 283-315.

ABREU, I. S. **Monitoramento da embriogênese somática em *Carica papaya* L. por técnicas de citogenética e de citometria de fluxo**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 58f. 2010.

ALMEIDA, E. P.; OLIVEIRA, R. P.; DANTAS, J. L. Protocolo para a embriogênese somática do mamoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 10, p. 2017-2024, 2000.

ALMEIDA, E. P.; OLIVEIRA, R. P.; DANTAS, J. L. L. Indução e desenvolvimento de calos e embriões somáticos em mamoeiro. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 1, p. 51-54, 2001.

AMMIRATO, P. G. V. Embryogenesis, In: EVANS, D. A.; SHARP, W. R.; AMMIRATO, P. G. V.; YAMADA, Y. (Eds). **Handbook of plant cell culture**. New York: MacMilan Publischer Company, v. 1, 123p. 1993.

ANDRADE, J. A. C.; PEREIRA, F. C. D. Uso do efeito xênia em híbridos comerciais de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 4, n. 1, p. 65-78, 2005.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. Heloísa Poll... (et al). Editora Gazeta Santa Cruz: Santa Cruz do Sul, RS. 2013, 136p.

ARANGO, L. V.; REZENDE, C. R.; CARVALHO, S. P. Identificação antecipada do sexo do mamoeiro pelos caracteres físicos das sementes e padrões isoenzimáticos das mudas. **Revista Corpoica**, v. 9, n. 1, p. 22-29, 2009.

ARYALA, R.; MING, R. Sex determination in flowering plants: papaya as a model system. **Plant Science**, v. 217-218, p. 56-62, 2014.

ASCENCIO-CABRAL, A.; GUTIÉRREZ-PULIDO, H.; RODRÍGUEZ-GARAY, B.; GUTIÉRREZ-MORA, A. Plant regeneration of *Carica papaya* L. through somatic embryogenesis in response to light quality, gelling agent and phloridzin. **Scientia Horticulturae**, v. 118, p. 155-160, 2008.

BARELLI, M. A. A.; GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; VIDIGAL FILHO, P. S.; SCAPIM, C. A. Heterose relativa em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Acta Scientiarum**. Agronomy, v. 20, p. 257-262, 1998.

BEE, O. B.; MOHAMED, M. T. M.; AZIZ, S. T. A. A.; ANWAR, M. D. P.; MAHMOOD, M. Germination, growth and biochemical responses of papaya (*Carica papaya* L.) to electric field. **Research on Crops**, v. 15, n. 1, p. 159-168, 2014.

BERBERT, P. A.; CARLESSO, V. A.; SILVA, R. F.; ARAÚJO, E. F.; THIÉBAUT, J. T. L.; OLIVEIRA, M. T. R. Qualidade fisiológica de semente de mamão em função da secagem e do armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 1, p. 40-48, 2008.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2nd ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BHATTACHARYA, J.; KHUSPE, S. S. *In vitro* and *in vivo* germination of papaya (*Carica papaya* L.) seeds. **Scientia Horticulturae**, v. 91, p. 39-49, 2001.

BOFF, F. **Obtenção de mamoeiro (*Carica papaya* L.) resistente à mancha anelar e à meleira através de transformação genética via biobalística e embriogênese somática**. Monografia (Licenciatura em Ciências Naturais), Universidade Federal de Brasília, Brasília, DF, 15f. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395p.

BRUIJNE, E. de; LANGHE, E. de; VAN RIJCK, R. Actions of hormones and embryoid formation in callus cultures of *Carica papaya*. **Int Symp Crop Prot, Fytopharmacie en Fytiatrie Rijkslandsbouwhoogeschool Medelingen**, v. 39, p. 637-645, 1974.

BUKHORI, M. F. M.; JIN, C. S.; KHALID, N.; PILLAI, V.; RAHMAN, N. A. Improved protocol for high frequency plant regeneration through somatic embryogenesis in *Carica papaya*. **Research in Biotechnology**, v. 4, n. 5, p. 09-19, 2013.

CAMPOSTRINI, E.; YAMANISHI, O. K.; MARTINEZ, C. A. Leaf gas exchange characteristics of four papaya genotypes during different stages of development. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 522-525, 2001.

CAMPOSTRINI, E; GLENN, D. M. Ecophysiology of papaya: a review. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 19, n. 4, p. 413-424, 2007.

CARDOSO, D. L.; SILVA, R. F.; PEREIRA, M. G.; VIANA, A. P. Diversidade genética e parâmetros genéticos relacionados à qualidade fisiológica de sementes em germoplasma de mamoeiro. **Revista Ceres**, v. 56, n. 5, p. 572-579, 2009.

CARLESSO, V. O.; BERBERT, P. A.; SILVA, R. F.; THIÉBAUT, J. T. L.; OLIVEIRA, M. T. R. Germinação e vigor de sementes de mamão (*Carica papaya* L.) cv. Golden secadas em altas temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 2, p. 228-235, 2009.

CARR, M. K. V. The water relations and irrigation requirements of papaya (*Carica papaya* L.): a review. **Experimental Agriculture**, v. 50, n. 2, p. 270-283, 2014.

CASTILLO, B.; SMITH, M. A. L.; YADAVA, U. L. Plant regeneration from encapsulated somatic embryos of *Carica papaya* L. **Plant Cell Reports**, v. 17, p. 172-176, 1998.

CHAGAS, K. **Maturação e germinação de embriões somáticos do mamoeiro 'Golden THB'**. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical), Universidade Federal do Espírito Santo, 54f. 2014.

CHAN, L. K.; TEO, C. K. H. Micropropagation of Eksotika, a Malaysian papaya cultivar and the field performance of the tissue culture derived clones. **Acta Horticulturae**, v. 575, p. 99-105, 2002.

CHAN-TAI, C., YEN, C. R.; CHANG, L. S.; HSIAO, C-H.; KO, T-S. All hermaphrodite progeny are derived by self-pollinating the Sunrise papaya mutant. **Plant Breeding**, v. 122, p. 431-434, 2003.

CHAUHAN, R.; JADRAV, S. K.; QUAIRSHI, A. An efficient seed germination and seedling establishment protocol for hybrid *Carica papaya* Linn. with application of plant growth regulator. **Biotechnology**, v. 13, n. 3, p. 139-142, 2014.

CHAUHAN, D. S.; DESWAL, D. P.; DAHIYA, O. S.; PUNIA, R. C. Change in storage enzymes activities in natural and accelerated aged seed of wheat (*Triticum aestivum*). **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 81, n. 11, p. 1037-1040, 2011.

CID, L. P. B. **Cultivo *in vitro* de plantas**. Brasília: EMBRAPA, Embrapa Formação Tecnológica, 2010. 303p.

COELHO, D. L. M.; AGOSTINI, E. A. T.; GUABERTO, L. M.; MACHADO NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C. Estresse hídrico com diferentes osmóticos em sementes de feijão e

expressão diferencial de proteínas durante a germinação. **Maringá**, v. 32, n. 3, p. 491-499, 2010.

COOLBEAR, P. Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications. In: BARSA, A. S. (Ed.). **Mechanisms of seed deterioration**. New York: The Hawoeth Press Inc., 1995. p. 223-277.

COSTA, F. R.; PEREIRA, T. N. S.; GABRIEL, A. P. C.; PEREIRA, M. G.; ISSR markers for genetic relationships in Caricaceae and sex differentiation in papaya. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 11, p. 352-357, 2011.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, J. A.; CARNEIRO, P. C. S. Diversidade genética. In: CRUZ, C. D.; REGAZZI, J. A.; CARNEIRO, P. C. S. (Eds.) **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2004, v. 1, p. 377-413.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Viçosa: UFV, 2011, 620p.

DANTAS, J. L. L.; JUNGHANS, D. T.; LIMA, J. F. de. **Mamão: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. 2 ed. Brasília: EMBRAPA, Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2013. 170p.

DANTAS, J. L. L.; LIMA, L. F. Seleção e recomendação de variedades de mamoeiro – avaliação de linhagens e híbridos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 617-621, 2001.

DANTAS, J. L. L.; DANTAS, A. C. V. L.; LIMA, J. F. Mamoeiro. In: BRUCKNER, C. H. **Melhoramento de fruteiras tropicais**. UFV: Viçosa, p. 309-349, 2002.

DANTAS, J. L. L.; OLIVEIRA, E. J. O melhoramento genético do mamoeiro: avanços, desafios e perspectivas. In: **I Simpósio Nordestino de Genética e Melhoramento de Plantas**, 2009, Fortaleza - CE. O melhoramento genético no contexto atual. Fortaleza - CE : Embrapa Agroindústria Tropical, v. 1. p. 151-180, 2009.

DELL'AQUILA, A. Wheat seed ageing and embryo protein degradation. **Seed Science Research**, v. 4, n. 2, p. 293-298, 1994.

DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C. C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science & Technology**, v. 1, n. 2, p. 427-452, 1973.

DETONI, J. L. **Embriogênese somática em mamoeiro seleção THB**. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical), Universidade Federal do Espírito Santo, 72f. 2013.

DEPUTY, J. C.; MING, R.; MA, H.; LIU, Z.; FITCH, M. M. M.; WANG, M.; MANSHARDT, R.; STILES, J. I. Molecular markers for sex determination in papaya (*Carica papaya* L.). **Theoretical and Applied Genetic**, v. 106, p. 107–111, 2002.

DIAS, D. C. F. S.; ESTANISLAU, W. T.; FINGER, F. L.; DIAS, L. A. S. Physiological and enzymatic alterations in papaya seed during storage. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 1, p. 148-157, 2010.

DIAS, N. L. P.; OLIVEIRA, E. J.; DANTAS, J. L. L. Avaliação de genótipos de mamoeiro com uso de descritores agronômicos e estimação de parâmetros genéticos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 11, p. 1471-1479, 2011.

FARZANA, A. R. F.; PALKADAPALA, K. M. M. N.; MEDDEGODA, P. K.; SAMARAJEWA, P. K.; EESWARA, J. P. Somatic embryogenesis in papaya (*Carica papaya* L. cv. Rathna). **Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka**, v. 36, n. 1, p. 41-50, 2008.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004, 323p.

FERREIRA, D. F. **Análise multivariada**. 2 ed. Lavras: Ed. UFLA. 2011a. 676p.

FERREIRA, J. P.; SCHMILDT, E. R.; AMARAL, J. A. T.; SCHMILDT, O.; NASCIMENTO, A. L. Enraizamento *in vitro* e clones de mamoeiro ‘Tainung 01’. **Ciência Agrônômica**, v. 42, n. 2, p. 563-566, 2011.

FERREIRA, J. P.; SCHMILDT, O.; SCHMILDT, E. R.; PIANTAVINHA, W. C.; CATTANEO, L. F. Correlações entre características morfo-agronômicas de acessos de mamoeiro. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 14, p. 246-257, 2012.

FITCH, M. M. M.; LEONG, T.; AKASHI, L.; YEH, A.; WHITE, S.; FERREIRA, S. A.; MOORE, P. H. Papaya ringspot virus resistance genes as a stimulus for developing new cultivars and new production systems. **Acta Horticulturae**, v. 575, p. 85-91, 2002.

FRANCE. Environment Directorate Organisation for Economic Co-operation and Development. **Consensus document on the biology of papaya (*Carica papaya*)**. Paris: OECD Environment, Health and Safety Publications, Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology, n. 33, 2005. 66p.

FREITAS, D. A. C.; PESKE, S. T.; FISS, G.; VINHOLES, P. S.; ZIMMER, P. D.; VILLELA, F. A.; FAGUNDES, P. R. R. Seleção de genótipos de arroz tolerantes à baixa temperatura. In: XVI Congresso de Iniciação Científica: pesquisa e responsabilidade ambiental, 2007, Pelotas - RS. **Anais...** Pelotas: Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, 2007.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O.; STEINMACHER, D. A. **Introdução ao conceito de Biotecnologia**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2006. 41 p.

GUZMÁN, M. de J. B.; RAMÍREZ, P. V.; NAVA, M. T. B.; SÁNCHEZ, G. M.; GONZÁLEZ, S. G. Inducción *in vitro* de raíces de *Carica papaya* mediante *Agrobacterium rhizogenes* y ácido 3-indolbutírico. **Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas**, v. 4, n. 7, p. 1055-1065, 2013.

HERINGER, A. S.; VALE, E. de M.; BARROSO, T.; SANTA-CATARINA, C.; SILVEIRA, V. Polyethylene glycol effects on somatic embryogenesis of papaya hybrid UENF/CALIMAN 01 seeds. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 25, n. 2, p. 116-124, 2013.

JESUS, C. C. de. **Estabelecimento de protocolo de regeneração por embriogênese somática e transformação genética do mamoeiro**. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 68f. 2013.

KABIR, A. H.; BARI, M. A.; REZYY, M. A.; MAHFUZ, I. Effect of growth regulators and carbon sources on axillary shoot proliferation from shoot-tip explants and successful transplatation of papaya (*Carica papaya* L.). **Biotechnology**, v. 6, n. 2, p. 268-272, 2007.

KOEHLER, A. D. **Embriogênese somática em mamoeiro (*Carica papaya* L.): anatomia, histoquímica e influência de ACC, AVG e STS e de pulsos de 2,4-D**. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal de Viçosa, 85f. 2004.

KOEHLER, A. D.; CARVALHO, C. R.; ABREU, I. S.; CLARINDO, W. R. Somatic embryogenesis from leaf explants of hermaphrodite *Carica papaya*: a new approach for clonal propagation. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 18, p. 2386-2391, 2013.

KOSOVÁA, K.; VÍTÁMVÁSA, P.; PRÁŠILA, I. T.; RENAUTB, J. Plant proteome changes under abiotic stress - Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. **Journal of Proteomics**, v. 74, p. 1301-1322, 2011.

KUNG, Y.; YU, T.; HUANG, C.; WANG, H.; WANG, S.; YEH, S. Generation of hermaphrodite transgenic papaya lines with virus resistance via transformation of somatic

embryos derived from adventitious roots of *in vitro* shoots. **Transgenic Research**, v. 19, p. 621-635, 2010.

LEHNER, A.; MAMADOU, N.; POELS, P.; CÔME, D.; BAILLY, C. Changes in soluble carbohydrates, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the embryo during ageing in wheat grains. **Journal of Cereal Science**, v. 47, n. 3, p. 555-565, 2008.

LEONEL, S.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Influência da alternância de temperatura e tratamentos com GA₃ na germinação de sementes de mamoeiro. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 19, n. 1, p. 68-72, 1998.

LOPES, A. W. P.; SELEGUINI, A.; BOLIANI, A. C.; CÔRREA, L. S. Estádio de maturação do fruto e uso do ácido giberélico na germinação de sementes de mamoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, n. 4, p. 278-284, 2009.

LOPES, H. M.; SOUZA, C. M. Efeitos da giberelina e da secagem no condicionamento osmótico sobre a viabilidade e o vigor de sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 1, p.181-189, 2008.

MACEDO, C. M. P.; PEREIRA, M. G.; CARDOSO, D. L.; SILVA, R. F. Evaluation of seed physiological quality of papaya elite hybrids, their reciprocal crosses and parents. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 2, p. 190-197, 2013.

MAHAJAN, S.; TUTEJA, N. Cold, salinity and drought stresses: an overview. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 444, p. 139-158, 2005.

MAHOUACHI, J.; SOCORRO, A. R.; TALON, M. Responses of papaya seedlings (*Carica papaya* L.) to water stress and re-hydration: growth, photosynthesis and mineral nutrient imbalance. **Plant and Soil**, v. 281, p. 137-146, 2006.

MAHOUACHI, J.; ARBONA, V.; GÓMEZ-CADENAS, A. Hormonal changes in papaya seedlings subjected to progressive water stress and re-watering. **Plant Growth Regulation**, v. 53, p. 43-51, 2007.

MAHOUACHI, J.; ARGAMASILLA, R.; GÓMEZ-CADENAS, A. Influence of exogenous glycine betaine and abscisic acid on papaya in responses to water-deficit stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 31, p. 1-10, 2012.

MAIA, L. G. S.; SILVA, C. A.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Variabilidade genética associada à germinação e vigor de sementes de linhagens de feijoeiro comum. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 2, p. 361-367, 2011.

MALABADI, R. B.; KUMAR, S. V.; MULGUND, G. S.; NATARAJA, K. Induction of somatic embryogenesis in papaya (*Carica papaya*). **Research in Biotechnology**, v. 2, n. 5, p. 40-55, 2011.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MARIN, S. L. D. **Melhoramento genético do mamoeiro (*Carica papaya* L.): habilidade combinatória de genótipos dos grupos “Solo” e “Formosa”**. Tese (Doutorado em Produção Vegetal), Universidade do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 116f. 2001.

MARIN, S. L. D.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; MARTELLETO, L. A. P.; IDE, C. D. Heterosis in papaya hybrids from partial diallel of 'Solo' and 'Formosa' parents. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 24-29, 2006a.

MARIN, S. L. D.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; MARTELLETO, L. A. P.; IDE, C. D. Partial diallel to evaluate the combining ability for economically important traits of papaya. **Scientia Agricola**, v. 63, n. 6, p. 540-546, 2006b.

MAYER, A. C.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. London: Pergamon Press, 1989. 270p.

MELETTI, L. M. M.; SAMPAIO, A. C.; RUGGIERO, C. Avanços na fruticultura tropical no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. Especial, p. 73-75, 2011.

MENGARDA, L. H. G.; LOPES, J. C.; BUFFON, R. B. Emergência e vigor de mudas de genótipos de mamoeiro em função da irradiância. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44, n. 3, p. 325-333, 2014.

MUMO, N. N.; RIMBERIA, F. K.; MAMATI, G. E.; KIHURANI, A. W. *In vitro* regeneration of selected Kenyan papaya (*Carica papaya* L.) lines through shoot tip culture. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 49, p. 6826-6832, 2013.

MUNNS. R.; TESTER, M. Mechanisms of Salinity Tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651-681, 2009.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497. 1962.

NAVA, R.; GARCIA, A. V.; MARIN R., C.; VILLEGAS, Z. Propagación clonal de plantas elite de *Carica papaya* L. usando microinjertación *in vitro* e *in vivo*. **Interciência**, v. 36, n. 7, p. 517-523, 2011.

NGUYEN, T. T. T.; SHAW, P. N.; PARAT, M-O.; HEWAVITHARANA, A. K. Anticancer activity of *Carica papaya*: a review. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 57, p. 153-164, 2013.

NONOGAKIA, H.; BASSELB, G. W.; BEWLEY, J. D. Germination - Still a mystery. **Plant Science**, v. 179, p. 574-581, 2010.

OLIVEIRA, E. J.; DANTAS, J. L. L.; CASTELLEN, M. S.; LIMA, D. S.; BARBOSA, H. S.; MOTTA, T. B. N. Marcadores moleculares na predição do sexo em plantas de mamoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 12, p. 1747-1754, 2007.

OLIVEIRA, E. J.; LIMA, D. S.; 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.; DIAS, N. L. P.; DANTAS, J. L. L. Selection of morpho-agronomic descriptors for characterization of papaya cultivars. **Euphytica**, v. 185, p. 253-265, 2012a.

OLIVEIRA, J. P. B.; ALEXANDRE, R. S.; NEGREIROS, J. R. S.; LOPES, L. C.; BRUCKNER, C. H. Lipid peroxidation and seed emergency in progenies of the yellow passion fruit plant. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 3, p. 711-718, 2012b.

OLIVEIRA, K. I. S.; DANIEL, J.; LANGE, C. E. Seleção de genótipos de soja tolerantes ao excesso hídrico na fase de germinação e emergência. In: XXI Salão de Iniciação Científica, 21, 2009, Porto Alegre – RS. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 2009.

OLIVEIRA, M. J. V. de; SCHMILDT, E. R.; AMARAL, J. A. T do; COELHO, R. I.; SCHMILDT, O. Formas de esterilização do GA₃ e reação morfogênica em microestacas de mamoeiro. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 467-471, 2014.

OLIVIO, F.; TUNES, L. M.; OLIVIO, M.; BERTAN, I.; PESKE, S. Espessura do tegumento e qualidade física e fisiológica de sementes de feijão. **Verde**, v. 6, n. 1, p. 89-93, 2011.

PAN, L.-J.; JIANG, L. Identification and expression of the WRKY transcription factors of *Carica papaya* in response to abiotic and biotic stresses. **Molecular Biology Reports**, v. 41, p. 1215–1225, 2014.

POLLOCK, B. M.; ROSS, E. E. Seed and seedling vigor. In: KOZLOWSKI, T. T. **Seed biology: importance, development and germination**, v. 1. 1972. p. 313:387.

POPINIGS, F. **Fisiologia da semente**. 2.ed. Brasília: Ministério da Agricultura, 1985. 289p.

QUINTAL, S. S. R.; VIANA, A. P.; GONÇALVES, L. S. A.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JÚNIOR, A. T. Divergência genética entre acessos de mamoeiro por meio de variáveis morfoagronômicas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 131-142, 2012.

RAMOS, H. C. C. PEREIRA, M. G.; GONÇALVES, L. S. A.; BERILLI, A. P. C. G.; PINTO, F. O.; RIBEIRO, E. H. Multivariate analysis to determine the genetic distance among backcross papaya (*Carica papaya*) progênies. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, n. 2, p. 1280-1295, 2012.

RENUKDAS, N.; MOHAN, M. L.; KHUSPE, S. S.; RAWAL, S. K. Influence of boron on somatic embryogenesis on papaya. **Biologia Plantarum**, v. 47, n. 1, p. 129-132, 2004.

ROBERT-SEILANIANTZ, A.; BARI, R.; JONES, J. D. G. A biotic or abiotic stress? In.: PAREEK, A.; SOPORY, S. K.; BOHNERT, H. J.; GOVINDJEE (Eds.) **Abiotic Stress Adaptation in Plants: Physiological, Molecular and Genomic Foundation**. Netherlands: Springer, 2010. p. 103-122.

RAJEEVAN, M. S.; PANDEY, R. M. Lateral bud culture of papaya (*Carica papaya* L.) for clonal propagation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 6, p. 181-188, 1986.

RUGGIERO, C.; MARIN, S. L. D.; DURIGAN, J. F. Mamão, uma história de sucesso. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. Especial, p. 76-82, 2011.

SAHA, M.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Somatic embryogenesis in different varieties of *Carica papaya* L. **Journal of Tissue Research**, v. 4, n. 1, p. 143-145, 2004.

SANTOS, S. A.; SILVA, R. F.; PEREIRA, M. G.; ALVES, E. MACHADO, J. C.; BORÉM, F. M.; GUIMARÃES, R. M.; MARQUES, E. R. Estudos morfo-anatômicos de sementes de dois genótipos de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 2, p.116-122, 2009.

SARI, M.; MURNIATI, E.; SUHARTANTO, M. R. Pengaruh sarcotesta dan pengeringan benih serta perlakuan pendahuluan terhadap viabilitas dan dormansi benih pepaya (*Carica papaya* L.). **Jurnal Agronomi Indonesia**, v. 3, n. 2, p. 23-30, 2005.

SCHMILDT, E. R.; FRONZA, V.; DIAZ, J. L. S.; UNÊDA, S. H.; ALVARENGA, E. M. Comparação de métodos físicos de remoção da sarcotesta e de métodos de secagem de sementes de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 15, n. 2, p. 147-151, 1993.

SCHMILDT, E. R.; AMARAL, J. A. T.; SCHMILDT, O. Sacarose na fase de enraizamento *in vitro* de mamoeiro 'Tainung 01'. **Scientia Agraria**, v. 8, n. 1, p. 25-30, 2007a.

SCHMILDT, O.; SCHMILDT, E. R.; AMARAL, J. A. T. do. Cinetina e ANA na multiplicação *in vitro* de mamoeiro 'Tainung 01'. **Scientia Agraria**, v. 8, n. 1, p. 55-60, 2007b.

SCHMILDT, O.; SCHMILDT, E. R.; AMARAL, J. A. T. do. Sulfato de adenina na multiplicação *in vitro* de mamoeiro 'Tainung 01'. **Scientia Agraria**, v. 8, n. 2, p. 141-147, 2007c.

SCHMILDT, E. R.; AMARAL, J. A. T.; SCHMILDT, O.; COELHO, R. I.; RABELLO, W. S.; MARTINS FILHO, S. Resposta rizogênica *in vitro* de ápices caulinares de mamoeiro 'Tainung 01' em diferentes tempos de permanência em meios de indução e regeneração. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 31, n. 4, p. 695-700, 2009.

SCHMILDT, E. R.; AMARAL, J. A. T.; SCHMILDT, O. COELHO, R. I.; RABELLO, W. S.; MARTINS FILHO, S. Níveis de ácido indol butírico (AIB) no enraizamento *in vitro* de microestacas de mamoeiro 'Tainung 01'. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 1, p. 125-129, 2010.

SCHMILDT, O.; SILVA, C. A.; FERREGUETTI, G. A.; SCHMILDT, E. R.; CZEPAK, M. P. Correlação canônica entre caracteres vegetativos e de capacidade de brotação em mamoeiro. **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 13, p. 255-262, 2011.

SCHWEMBER, A.; BRADFORD, K. J. Quantitative trait loci associated with longevity of lettuce seeds under conventional and controlled deterioration storage conditions. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 15, p. 4423-4436, 2010.

SILVA, F. F.; PEREIRA, M. G.; RAMOS, H. C. C.; DAMASCENO JUNIOR, P. C.; PEREIRA, T. N. S.; IDE, C. D. Genotypic correlations of morpho-agronomic traits in papaya and implications for genetic breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 7, p. 345-352, 2007.

SILVA, F. F.; PEREIRA, M. G.; RAMOS, H. C. C.; DAMASCENO JUNIOR, P. C.; PEREIRA, T. N. S.; GABRIEL, A. P. C.; VIANA, A. P.; FERREGUETTI, G. A. Selection and estimation of the genetic gain in segregating generations of papaya (*Carica papaya* L.). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 8, p. 1-8, 2008a.

SILVA, R. N.; DUARTE, G. L.; LOPES, N. F.; MORAES, D. M.; PEREIRA, A. L. A. Composição química de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.) submetidas a estresse salino na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 1, p. 215-220, 2008b.

SILVA, F. A.; GOMES, M. F. M.; CORONEL, D. A.; GOMES, M. T. M. Competitividade das exportações brasileiras de mamão, 1995 a 2008. **Revista de Economia e Agronegócio**, v. 9, n. 3, p. 393-420, 2011.

SIQUEIRA, T. V. A cultura do mamão: desempenho no período 1961-2002. **BNDES Setorial**, n. 18, p. 91-148, 2003.

SUDHA, R.; BALAMOCHAN, T. N.; SOORIANATHASUNDARAM, K.; MANIVANNAN, N.; RABINDRAN, R. Evaluation of F₂ intergeneric population of papaya (*Carica papaya* L.) for resistance to papaya ringspot virus (PRSV). **Scientia Horticulturae**, v. 158, p. 68-74, 2013.

SUTANTO, A.; AZIZ, M. A. induksi dan regenerasi embriogenesis somatik pepaya. **Jurnal Hortikultura**, v. 16, n. 2, p. 89-95, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 719p.

TEIXEIRA DA SILVA, J. A.; RASHID, Z.; NHUT, D. T.; SIVAKUMAR, D. Papaya (*Carica papaya* L.): biology and biotechnology. **Tree and Forestry Science and Biotechnology**, v. 1, n. 1, p. 47-73, 2007.

TEIXEIRA DA SILVA, J. A. *In vitro* rhizogenesis in papaya (*Carica papaya* L.). **Journal of Plant Development**, v. 20, p. 51 – 55, 2013.

TEIXEIRA, M. T.; TEIXEIRA, S. L. Estabelecimento de segmentos apicais de mamoeiro *in vitro*. **Revista Ceres**, v. LI, n. 296, p. 477-483, 2004.

TEO, C. K. H.; CHAN, L. K. The effects of agar content, nutrient concentration, genotype and light intensity on the *in vitro* rooting of papaya microcuttings. **The Journal of Horticultural Science**, v. 69, n. 2, p. 267-73, 1994.

TOKUHISA, D.; SANTOS DIAS, D. C. F.; ALVARENGA, E. M.; SANTOS DIAS, L. A.; MARIN, S. L. D. Tratamentos para superação da dormência em sementes de mamão. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 131-139, 2007.

TOKUHISA, D.; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, L. A. S.; MARIN, S. L. D. Época de colheita dos frutos e ocorrência de dormência em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 2, p. 75-80, 2008.

TRINDADE, A. V.; DANTAS, J. L. L. Embrapa mandioca e fruticultura tropical: programa de pesquisa e resultados obtidos com a cultura do mamão - 2008/2009. In: Simpósio do papaia brasileiro - Papaia Brasil – qualidade do mamão para o mercado interno, 2009, Vitória. **Anais...** Vitória: DCN – INCAPER, 2009.

VIJ, T.; PRASHAR, Y. A review on medicinal properties of *Carica papaya* Linn. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 5, n. 1, p. 1-6, 2015.

VALE, E. de M.; HERINGER, A. S.; BARROSO, T.; FERREIRA, A. T. da S.; COSTA, M. N. da; PERALES, J. E. A.; SANTA-CATARINA, C.; SILVEIRA, V. Comparative proteomic analysis of somatic embryo maturation in *Carica papaya* L. **Proteome Science**, v. 12, p. 37-55, 2014.

YU, T. A.; YEH, S. D.; CHENG, Y. H.; YANG, J. S. Efficient rooting for establishment of papaya plantlets by micropropagation. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 29, n. 1, p. 29-35, 2000.

ZANOTTI, R. F.; DIAS, D. C. F. S.; BARROS, R. S.; DAMATTA, F. M. ; OLIVEIRA, G. L. Germination and biochemical changes in 'Formosa' papaya seeds treated with plant hormones. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 36, n. 4, p. 435-442, 2014.

ZHU, C.; CHEN, J. Changes in soluble sugar and antioxidant enzymes in peanut seeds during ultra dry storage and after accelerated aging. **Seed Science & Technology**, v. 35, p. 387-401, 2007.

CAPÍTULO I

ALTERNÂNCIA DE TEMPERATURA E ENVELHECIMENTO ACELERADO NA MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS DURANTE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE MAMÃO⁶

⁶ *Artigo aceito para publicação em 20-11-2014, na revista Journal of Seed Science.*

ALTERNÂNCIA DE TEMPERATURA E ENVELHECIMENTO ACELERADO NA MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS DURANTE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE MAMÃO

RESUMO: Objetivou-se, com este estudo, avaliar a influência da alternância de temperatura e do envelhecimento acelerado na mobilização de reservas durante a germinação de sementes de *Carica papaya*, sendo caracterizado, inicialmente, o padrão de absorção de água. Foi avaliado o ganho de peso, obtendo-se a curva de embebição. A fase I da germinação compreende o período entre zero e cinco horas; a fase II, entre cinco e 120 horas; e a fase III se inicia após 144 horas. Sementes foram submetidas ao teste de germinação sob temperaturas de 25 e de 20-30 °C (16/8h), e sob envelhecimento acelerado (43 °C/72 h). Durante o teste de germinação, no tempo inicial, após 4, 10, 120 e 240 horas de embebição, foram determinados os teores de açúcares solúveis, amido, lipídios e proteínas totais. Observou-se maior germinação sob alternância de temperatura. Nesta condição há redução dos carboidratos, lipídios e proteínas na fase I, flutuações nos teores de lipídios e aumento nos teores de proteínas durante as fases II e III. A mobilização dos lipídios em sementes de mamão não sofre influência do envelhecimento acelerado, mas as sementes submetidas ao envelhecimento apresentam menor teor de proteínas na fase III.

Palavras-chave: *Carica papaya*, embebição, açúcares solúveis, amido, lipídios, proteínas.

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the influence of alternating temperature and accelerated aging in reserve mobilization in germination phases of *Carica papaya*, was characterized, initially, the pattern of water absorption. The weight gain was evaluated, to give the imbibition curve. The phase I of germination comprises the period

between zero to five hours; the phase II, from five to 120 hours; and the phase III begins after 144 hours. Seeds were subjected to germination test at temperatures of 25 and 20-30 °C (16/8h), and at accelerated aging (43 °C/72 h). During the germination test, at initial time, after 4, 10, 120 and 240 hours of soaking, we determined the levels of soluble sugars, starch, lipids, and proteins. Observed greater germination under alternating temperature, when there is a reduction of carbohydrates, lipids and proteins in phase I, there are fluctuations in the levels of lipids and increase in protein during phases II and III. The lipids mobilization in papaya seeds is not influenced by accelerated aging, but the seeds subjected to aging have lower protein content in phase III.

Keywords: *Carica papaya*, soaking, soluble sugars, starch, lipids, proteins.

INTRODUÇÃO

As sementes de mamão (*Carica papaya* L.), assim como as demais sementes ortodoxas, completam sua maturação em uma condição de dessecação na qual a atividade metabólica é muito reduzida, devendo ocorrer reabsorção de água (embebição) para que a germinação ocorra. A germinação depende de uma sequência ordenada de eventos metabólicos que sofrem influência de sinais externos, entre os quais, a temperatura e o envelhecimento (BEWLEY; BLACK, 1994; FERREIRA; BORGHETTI, 2004; MARCOS FILHO, 2005).

Bewley e Black (1994) propuseram um padrão trifásico de absorção de água durante a germinação, relacionando a velocidade de absorção de água com a digestão de reservas, a atividade enzimática e a formação de macromoléculas. A duração das fases varia muito entre as espécies. A delimitação entre as diferentes fases e a compreensão dos eventos metabólicos relacionados a cada fase trazem informações importantes, uma vez que podem identificar

estádios mais críticos no ciclo de vida da planta, auxiliando no manejo das culturas (MARCOS FILHO, 2005). Ainda, a identificação da duração de cada fase também é relevante para os estudos de osmocondicionamento e para a caracterização dos padrões de mobilização de reservas durante a germinação.

A mobilização adequada de compostos de reserva da semente é responsável por impulsionar o crescimento da plântula, até que esta adquira eficiência fotossintética. A mobilização consiste na digestão das reservas e na síntese de novos compostos, utilizados para a formação de novos protoplasmas e paredes celulares (NONOGAKIA et al., 2010). Sementes com maior vigor apresentam maior reserva de proteínas, lípideos e carboidratos. Isto confere às sementes um maior potencial de armazenamento, maior tolerância a estresses e maior capacidade de mobilização de reservas na germinação, resultando em plântulas de maior desempenho inicial (ZHU; CHEN, 2007; HENNING et al., 2010; KIM et al., 2011).

Condições ideais à germinação, que envolvem fornecimento adequado de água, temperatura, oxigênio, substrato e luz, permitem um processo contínuo de mobilização de reservas durante a germinação. No entanto, a mobilização sofre influência de componentes osmóticos (REIS et al., 2012), da salinidade (SILVA et al., 2008; DANTAS et al., 2014), da luz e dos reguladores de crescimento (REN et al., 2007; ZANOTTI et al., 2014), do envelhecimento acelerado (ZHU; CHEN, 2007; MENEZES et al., 2014) e do armazenamento (ABBADE; TAKAKI, 2014), fatores os quais podem acelerar ou retardar o processo, além de prejudicar o desenvolvimento de plântulas normais.

Condições desfavoráveis de fornecimento de água (REIS et al., 2012), temperatura, e processos de deterioração (MARCOS FILHO, 2005), podem alterar ou interromper a mobilização das reservas, prejudicando a germinação. Desta forma, objetivou-se identificar as fases da absorção de água durante a germinação de sementes de mamão (*Carica papaya* L.) e

avaliar a influência da alternância de temperatura e do envelhecimento acelerado na mobilização de reservas durante a germinação.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análise de Sementes do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo. Foram utilizadas sementes de mamão (*Carica papaya* L.) híbrido JS12 x Waimanalo.

Absorção de água durante a germinação: foram utilizadas sementes com e sem esclerotesta. A remoção da esclerotesta foi realizada manualmente, com auxílio de pinça. As sementes foram pesadas e distribuídas em rolos de papel umedecidos com água destilada, e mantidas em câmara de germinação com temperatura de 20-30 °C (16/8h). O ganho de peso foi avaliado a cada 15 minutos na primeira hora, a cada hora durante 12 horas, e a cada 24 horas durante 10 dias, sendo calculado o teor de água nas sementes. Foi determinada a curva de embebição e, associado à observação da emissão da raiz primária, delimitou-se as fases de absorção de água (BEWLEY; BLACK, 1994).

Temperatura constante e alternância de temperatura: sementes intactas foram submetidas ao teste de germinação sob temperaturas de 25 e de 20-30 °C, sendo avaliada a qualidade fisiológica. Concomitante ao teste de germinação, sementes submetidas às mesmas condições foram coletadas no tempo de 0, 4, 10, 120 e 240 horas, sendo congeladas imediatamente em nitrogênio líquido, e armazenadas para as avaliações bioquímicas.

Envelhecimento acelerado: sementes intactas foram distribuídas em camada única sobre tela em caixa tipo gerbox com 40 mL de água destilada, em câmara de germinação regulada à temperatura de 43 °C, por 72 h. Sementes envelhecidas (EA) e não envelhecidas (NEA) foram submetidas ao teste de germinação sob temperatura de 20-30 °C, sendo avaliada

a qualidade fisiológica. Concomitante ao teste de germinação, sementes submetidas às mesmas condições foram coletadas no tempo de 0, 4, 10, 120 e 240 horas, sendo congeladas imediatamente em nitrogênio líquido, e armazenadas para as avaliações bioquímicas.

Qualidade fisiológica das sementes: foi determinada com base nas avaliações de: porcentagem de germinação (G), considerando-se como germinadas (germinação *stricto sensu*) as sementes com protrusão da raiz primária $\geq 0,2$ cm, até os 28 dias após a semeadura; primeira, segunda e terceira contagem de germinação (PCG, SCG, TCG), realizadas aos sete, 14 e 21 dias, respectivamente, considerando-se as plântulas com protrusão da raiz primária, e expressas em porcentagem. Por não apresentarem normalidade e homogeneidade, impossibilitando a análise estatística, os dados referentes à PCG e TCG não foram apresentados; índice de velocidade de germinação (IVG), considerando-se as plântulas com protrusão da raiz primária, calculado de acordo com a fórmula proposta por Maguire (1962); porcentagem de plântulas normais (PN), considerando as plântulas com todas as estruturas formadas (raiz, hipocótilo e cotilédones), calculado em relação à porcentagem de germinação (plântulas com protrusão de raiz primária), após 28 dias da semeadura. Sob as plântulas normais, foram avaliados: comprimento da parte aérea (CPA) e da raiz (CR), expressos em cm plântula⁻¹; massa fresca (MF) e massa seca (MS), expressos em mg plântula⁻¹. A massa seca foi obtida em estufa de circulação forçada a 70 °C por 72 h.

Caracterização bioquímica: Amostras de sementes com aproximadamente 0,1 g de massa seca foram maceradas e centrifugadas em tubo Eppendorf, separando duas fases líquidas pelo método metanol, clorofórmio e água (MCW, 1:1:1). A fase superior, hidrossolúvel (metanol + água), foi utilizada para a quantificação dos açúcares solúveis, e a inferior, lipossolúvel (clorofórmio), utilizada para a quantificação dos lipídios. A fase sólida (“pellet”) foi usada para quantificação de amido. *Quantificação de lipídios (L)* - a solução da fase inferior foi colocada em tubos Eppendorf de 2 mL identificados e pesados em balança

com precisão de 0,0001 g. Em seguida, foram postos para secar em estufa, a 60 °C, e pesados novamente (BLIGH; DYER, 1959, modificado) para quantificação dos lipídios. *Quantificação de açúcares solúveis (A)* - os carboidratos na solução da porção superior foram hidrolizados e desidratados utilizando ácido sulfúrico concentrando, modificando os açúcares simples desidratados para furfural (YEMN; WILLIS, 1954). Os produtos desta reação se condensam com a antrona formando substância de coloração azul petróleo que é utilizada para leitura dos açúcares solúveis feita em espectrofotômetro (FEMTO, Cirrus 80ST), a 620 nm. *Quantificação de amido (Am)* – a fase sólida sofreu digestão em HCl 3% em banho-maria (95-100 °C) por 3 horas, sendo centrifugado (4000 rpm por 5 min.) e coletado o sobrenadante, com o qual procedeu-se o método de antrona, conforme descrito acima. Tubos contendo concentração conhecida de amido solúvel foram submetidos aos mesmos procedimentos para que a concentração pudesse ser obtida mediante curva padrão. *Quantificação de proteínas totais (P)* – foi realizada por inferência sobre o teor de nitrogênio (GALVANI; GAERTNER, 2006). Amostras de sementes de 0,1 g de massa seca foram trituradas e sofreram digestão bloco digestor até a mudança de coloração para verde, e posterior destilação e titulação. O NH_4^+ produzido na digestão em ácido sulfúrico é destilado em meio fortemente alcalino. O nitrato é condensado em solução de ácido bórico e titulado com solução de HCl. A proteína bruta (PB) é expressa pelo fator 6,25, considerando que a maioria das proteínas contém nas suas moléculas aproximadamente 16% de nitrogênio. Os resultados de quantificação de lipídios, açúcares solúveis, amido e proteínas foram expressos em porcentagem (em base de massa: mg mg^{-1}) da massa seca de sementes.

Delineamento experimental e análise estatística: adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 25 sementes por tratamento. Os tratamentos consistiram nas temperaturas: constante (25 °C) e alternada (20-30 °C), no primeiro experimento; e em sementes não envelhecidas (NEA) e envelhecidas (EA), no

segundo experimento. Os experimentos foram analisados separadamente. Foi realizada análise de variância, e as médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 5\%$). Para a análise dos tempos de embebição, foi adotado o esquema de parcelas subdivididas 2 x 5, sendo dois tratamentos [duas temperaturas (25 °C e 20-30 °C), no primeiro experimento; e duas condições de envelhecimento (NEA e EA), no segundo experimento], e cinco tempos de avaliação (0, 4, 10, 120 e 240 horas), sendo realizada análise de regressão e adotados os modelos significativos ($p \leq 5\%$) e de maior ordem (R^2) (THE R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING PLATAFORM, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Absorção de água durante a germinação

O teor de água inicial das sementes com esclerotesta e sem esclerotesta foi de 9,11 e 4,95%, respectivamente. Na primeira hora de embebição, as sementes com esclerotesta atingiram teor de água de 62,98%, enquanto as sementes sem esclerotesta atingiram 18,44% de água (Figura 1A).

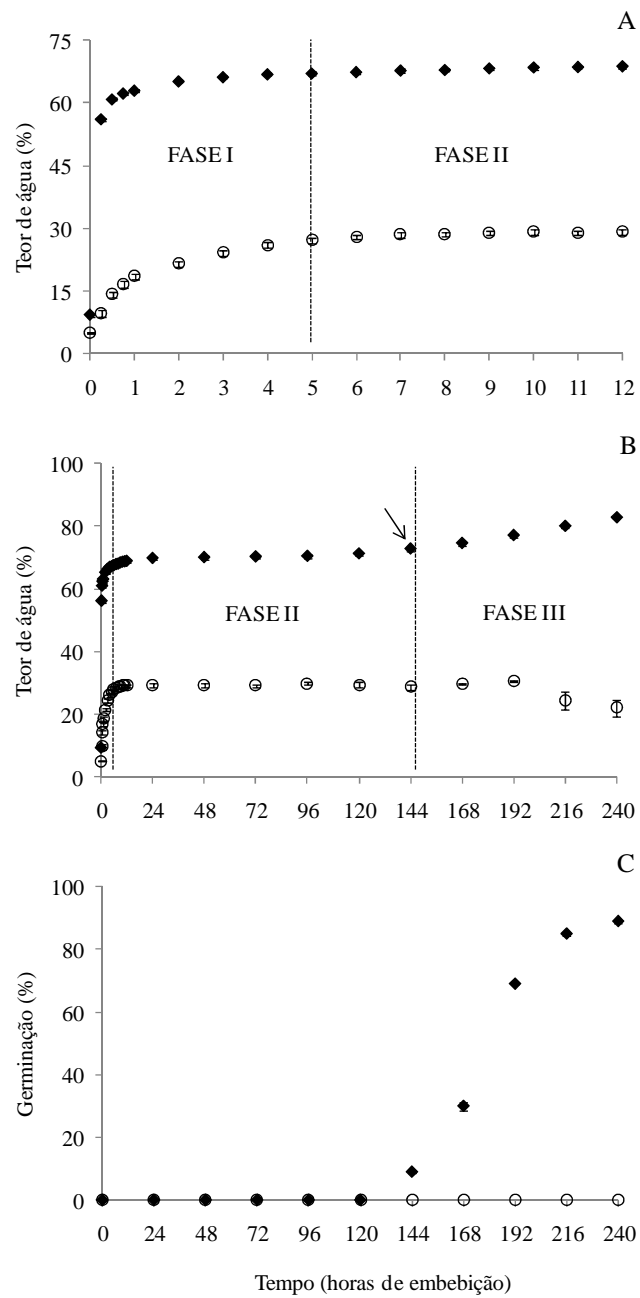


Figura 1. A - teor de água (%) de sementes de mamão híbrido JS12 x Waimanalo com esclerotesta ◆ e sem esclerotesta ○ durante as primeiras 12 horas de embebição; B - teor de água (%) de sementes durante 240 horas de embebição. A seta indica o início da protrusão da raiz primária; C – porcentagem de germinação a partir de sementes durante o período de embebição. Barras representam o erro padrão da média (n= 4).

A presença da esclerotesta influenciou a taxa de embebição de sementes de mamão que foi, em média, 43% maior do que nas sementes sem esclerotesta. A taxa inicial de embebição pode variar em detrimento das características do tegumento, da testa e do pericarpo que envolve o embrião (FERREIRA; BORGHETTI, 2004). Em *Crotalaria juncea*, diferentes taxas de absorção de água durante a embebição foram atribuídas ao tipo de revestimento e à espessura do endosperma de diferentes morfotipos de sementes (PASCUALIDES; PLANCHUELO, 2007).

Segundo Bewley e Black (1994), a embebição inicia-se com o rápido ganho de água (fase I), processo físico que ocorre independente da semente ser viável ou inviável, desde que não haja impermeabilidade do tegumento. Em seguida, observa-se uma estabilização (fase II) e, posteriormente, a semente volta a ganhar água com maior velocidade (fase III). Neste estudo, o padrão de absorção foi semelhante entre as sementes com e sem a esclerotesta, sendo observada a estabilização após cerca de cinco horas de embebição. Desta forma, foi possível identificar como fase I da absorção de água durante a germinação de sementes de mamão o período entre zero e cinco horas (Figura 1A).

No início da embebição das sementes viáveis ocorrem importantes alterações fisiológicas. Para espécies cultivadas, como aveia, trigo e milho, quando as sementes atingem cerca de 20% de água começa a respiração e produção de ATP; com aproximadamente 40% de água, inicia-se a síntese de mRNA e o reparo de DNA, a síntese de polissomos e de proteínas (BEWLEY; BLACK, 1994). Quando as células atingem a hidratação plena, o conteúdo de água se mantém constante ou aumenta muito lentamente, sendo este um período de preparo para a reativação do metabolismo, chamado de fase II (FERREIRA; BORGHETTI, 2004). Neste estudo, observou-se como fase II o intervalo entre cinco e 120 horas (Figura 1 A e B), no qual o teor de água de sementes com esclerotesta variou de 67,12 a 71,21%. Nas sementes sem esclerotesta, esta variação foi de 27,10 a 29,28% de água.

A fase II culmina com a protrusão da raiz primária o que, para muitas espécies, acontece com teor de água próximo de 60%. Neste ponto, inicia-se a fase III, com um novo aumento na embebição associado ao crescimento do embrião (divisão celular). A passagem da fase II para a fase III é um ponto sem retorno do processo germinativo, no qual ela não pode sofrer estresse por deficiência hídrica, podendo interromper definitivamente a germinação (FERREIRA; BORGHETTI, 2004; MARCOS FILHO, 2005).

Para as sementes com esclerotesta, o início da fase III ocorreu após 144 horas de embebição, quando as sementes atingiram 73% de água, sendo observado o início da germinação e novo aumento da absorção de água. Após 240 horas de embebição, as sementes com esclerotesta apresentaram 89% de germinação (Figura 1B e 1C). A protrusão da raiz primária estabilizou-se após 13 dias, atingindo 93%. Assim, foi possível delimitar as fases da absorção de água durante a germinação: a fase I ocorreu no intervalo entre zero e cinco horas de embebição; a fase II, entre cinco e 120 horas; a transição da fase II para fase III entre 120 e 144 horas; e a fase III, a partir de 144 horas.

As sementes sem esclerotesta não apresentaram aumento do teor de água nem protrusão da raiz, sendo observada deterioração. Após 216 horas de embebição, estas apresentaram declínio do ganho de peso (teor de água) (Figura 1B e C).

Temperatura na mobilização de reservas durante a germinação

As sementes de mamoeiro apresentaram maior porcentagem de germinação sob alternância de temperatura (91%), em comparação à temperatura constante (69%). A temperatura de 20-30 °C também promoveu maior velocidade de germinação e maior porcentagem de plântulas normais (Tabela 1).

Tabela 1. Qualidade fisiológica de sementes de mamão híbrido JS12 x Waimanalo submetidas à temperatura constante (25 °C) e alternância de temperatura (20-30 °C): porcentagem de germinação (G), segunda contagem de germinação (SCG), índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de plântulas normais (PN), comprimento da parte aérea (CPA), da raiz (CR), massa fresca (MF) e massa seca (MS) das plântulas normais

| Temperaturas (°C) | G | SCG | IVG | PN |
|-------------------|--------------------|---------|---------|---------|
| 25 | 69 | 67 | 2,13 | 66 |
| 20-30 | 91 | 84 | 2,63 | 88 |
| F _{cal} | 38,21** | 20,16** | 12,44* | 27,92** |
| CV (%) | 6,29 | 7,09 | 8,36 | 7,65 |
| | CPA | CR | MF | MS |
| 25 | 6,75 | 1,73 | 75,10 | 3,16 |
| 20-30 | 7,26 | 5,26 | 96,25 | 4,70 |
| F _{cal} | 1,33 ^{ns} | 40,19** | 24,38** | 21,67** |
| CV (%) | 9,01 | 22,58 | 7,07 | 11,87 |

*, ** e ^{ns} = Significativo em nível de 5 e 1%, respectivamente, e não significativo pelo teste F. F_{cal} = valor de F calculado obtido pela análise de variância. CV (%) = coeficiente de variação (n = 4).

Em sementes de *Annona emarginata*, maior porcentagem de germinação também foi observada nas sementes sob alternância de temperatura (20-30 °C) (COSTA et al., 2011). A temperatura influencia na velocidade de absorção de água, na velocidade e na uniformidade de germinação. Além disso, a temperatura também é determinante para as reações bioquímicas que determinam todo o processo (FERREIRA; BORGHETTI, 2004; MARCOS FILHO, 2005).

O teor de açúcares foi maior em sementes submetidas à temperatura constante (Tabela 2). Sob temperatura 20-30 °C notou-se que, após quatro horas de embebição (fase I), houve um decréscimo acentuado (de 5,93 para 3,63%) no teor de açúcares solúveis. Isto sugere que, sob alternância de temperatura, houve mobilização dos açúcares solúveis (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Tabela 2. Teores de açúcares solúveis, amido, lipídeo e proteínas totais, expressos em porcentagem ($m\ m^{-1}$), durante as fases de germinação de sementes de mamão híbrido JS12 x Waimanalo submetidas à temperatura constante (25 °C) e alternância de temperatura (20-30 °C)

| | Tempo (h) | | | | | Médias |
|--|-----------------------|---------|---------|---------|---------|--------|
| | 0 | 4 | 10 | 120 | 240 | |
| Temperaturas (°C) | Açúcares solúveis (%) | | | | | Médias |
| 25 | 6,03 | 5,30 | 6,71 | 6,48 | 5,59 | 6,02 a |
| 20-30 | 5,93 | 3,63 | 5,66 | 4,98 | 4,34 | 4,90 b |
| Médias | 5,98 | 4,47 | 6,19 | 5,73 | 4,97 | |
| F _{cal} (temperatura) | 26,85** | | | | | |
| F _{cal} (tempo) | 9,15** | | | | | |
| CV (%) | 12,43 | | | | | |
| | Amido (%) | | | | | Médias |
| 25 | 0,48 a* | 0,55 a | 0,57 a | 0,55 a | 0,76 a | 0,58 |
| 20-30 | 0,59 a | 0,45 a | 0,53 a | 0,51 a | 0,52 b | 0,52 |
| Médias | 0,54 | 0,50 | 0,55 | 0,53 | 0,64 | |
| F _{cal} (temperatura x tempo) | 4,07** | | | | | |
| CV (%) | 15,66 | | | | | |
| | Lipídios (%) | | | | | Médias |
| 25 | 4,15 a | 3,77 a | 4,29 a | 3,88 a | 4,11 a | 4,04 |
| 20-30 | 4,32 a | 2,01 b | 2,52 b | 2,43 b | 2,91 b | 2,84 |
| Médias | 4,24 | 2,89 | 3,40 | 3,16 | 3,51 | |
| F _{cal} (temperatura x tempo) | 5,29** | | | | | |
| CV (%) | 14,37 | | | | | |
| | Proteínas totais (%) | | | | | Médias |
| 25 | 28,14 a | 27,96 a | 21,53 b | 20,41 b | 21,45 b | 23,90 |
| 20-30 | 29,12 a | 22,53 b | 28,07 a | 27,17 a | 30,52 a | 27,48 |
| Médias | 28,63 | 25,25 | 24,80 | 23,79 | 25,99 | |
| F _{cal} (temperatura x tempo) | 121,48** | | | | | |
| CV (%) | 2,92 | | | | | |

*, ** e ns = Significativo em nível de 5 e 1%, respectivamente, e não significativo pelo teste F. F_{cal} = valor de F calculado obtido pela análise de variância. CV (%) = coeficiente de variação (n = 4).

Com alternância de temperatura (20-30 °C), observou-se menor teor de amido após 240 horas de embebição (fase III); o teor de lipídios apresentou menores médias entre quatro e 240 horas de embebição (fase I e fase III, respectivamente); o teor de proteínas totais apresentou menor média após quatro horas de embebição (fase I), e maiores médias nas avaliações seguintes (Tabela 2).

O teor médio de açúcares solúveis totais nas diferentes fases foi de 5,47% (Figura 2A). Não houve ajuste aos modelos de regressão e, assim, não foi possível identificar o padrão de mobilização destas reservas. Em *Apuleia leiocarpa*, observou-se que os teores médios de açúcares solúveis não diferiram significativamente durante a embebição das sementes, concluindo que a germinação não foi dependente de carboidratos como fonte de energia ou para criar estruturas físicas (PONTES et al., 2002). No entanto, é comum ocorrer a interconversão entre os diferentes açúcares, com valores simultaneamente crescentes de um e decrescente de outro (FERREIRA; BORGHETTI, 2004; MAGALHÃES et al., 2009). Logo, a análise isolada dos teores de açúcares solúveis totais não permite concluir sobre a sua mobilização.

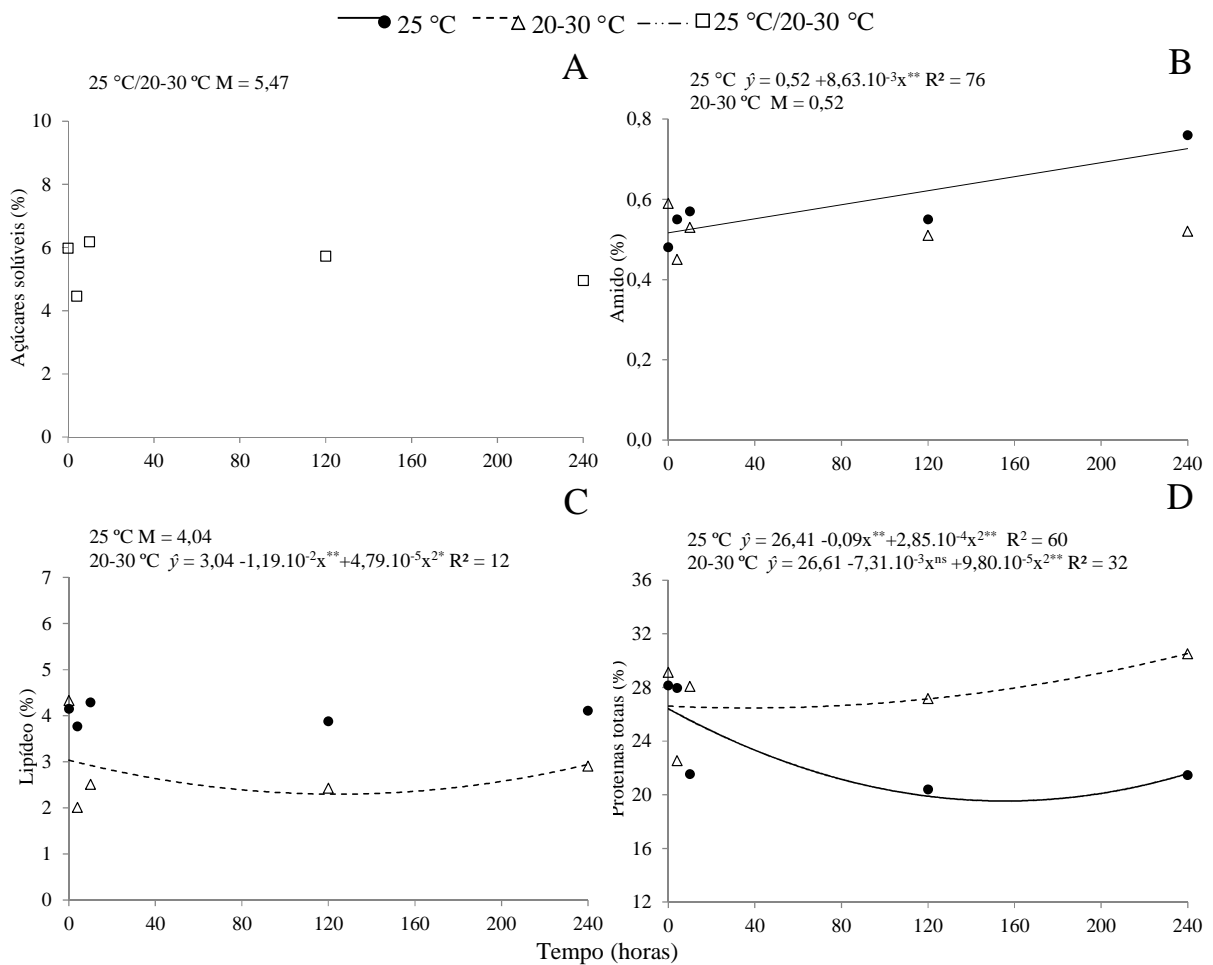


Figura 2. Mobilização de reservas durante a germinação de sementes de mamão híbrido JS12 x Waimanalo submetidas à temperatura constante (25 °C), à alternância de temperatura (20-30 °C), ou à média dos dois tratamentos (25 °C/20-30 °C) (interação não significativa): A – teor de açúcares solúveis; B – teor de amido; C – teor de lipídios; D – teor de proteínas totais. Valores expressos em porcentagem (em base de massa: mg mg⁻¹). \hat{y} estimado; M – média do(s) tratamento(s); *, ** Significativo em nível de 5 e 1%, respectivamente; ^{ns} = não significativo.

Houve aumento linear dos teores de amido sob temperatura constante (25 °C). Já na alternância de temperatura (20-30 °C), o teor de amido manteve-se constante (0,52%) (Figura 2B). A manutenção de teor constante de amido pode ter ocorrido devido à pequena

quantidade presente nas sementes de mamão, o que sugere que o amido possa não desempenhar papel relevante como reserva energética ou estrutural. Ainda, a degradação de amido pode ser inibida pelo acúmulo do seu produto final (maltose e glucose), uma vez que estes inibem a atividade da beta-amilase (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

O teor de lipídios permaneceu constante (4,04%) na temperatura de 25 °C. Já em 20-30 °C, condição na qual se observou maior porcentagem de germinação, o teor inicial sofreu redução expressiva (de 4,32 para 2,01%) após quatro horas de embebição (fase I) (Figura 2C). No início da germinação, os substratos iniciais utilizados como fonte de energia são os açúcares solúveis. No entanto, para muitas sementes, a energia para a germinação advém da quebra de amido e lipídios em sacarose (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Após a redução inicial dos teores de lipídios, observou-se tendência ao aumento nas fases II e III, indicando a mobilização destes compostos no decorrer do processo de germinação. A partir da quantificação e avaliação da mobilização de lipídios durante a germinação de *Apuleia leiocarpa*, verificou-se que as necessidades energéticas e estruturais da germinação são supridas por lipídios (PONTES et al., 2002).

Corte et al. (2008) sugerem o envolvimento direto das reservas de lipídios como suprimento energético para germinação e crescimento das plântulas de *Caesalpinia peltophoroides*. Em sementes de mamão, o uso de substâncias como o KNO₃, eficientes no aumento da germinação e na superação de dormência, promovem a maior mobilização de lipídios (ZANOTTI et al., 2014). Logo, sugere-se que os lipídios exerçam influência importante na germinação de sementes de mamão.

Em 25 °C foi observado menores teores de proteínas totais considerando os teores observados sob alternância de temperatura (20-30 °C), especialmente no final da fase II e na fase III (Figura 2D). Enquanto na fase I há gasto energético e degradação das macromoléculas, durante a fase II, inicia-se a síntese de inúmeros compostos. Ao final da fase

II e na fase III, aminoácidos, sacarose e ATP são translocados para o eixo embrionário, que apresenta aumento nos teores de proteínas (MARCOS FILHO, 2005; KIM et al., 2011), conforme observado para as sementes de mamão em 20-30 °C.

Assim, sob alternância de temperatura (20-30 °C) observou-se que os teores iniciais de reservas (açúcares, amido, lipídios e proteínas) apresentaram redução às quatro horas (fase I). Também se observou aumento nos teores de proteínas durante as fases II e III, o que pode ter favorecido o processo de germinação do mamoeiro.

Envelhecimento acelerado na mobilização de reservas durante a germinação

As sementes não envelhecidas (NEA) apresentaram maiores médias para segunda contagem de germinação (SCG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de raiz (CR), massa fresca (MF) e seca (MS) das plântulas, comparado às sementes submetidas ao envelhecimento acelerado (EA) (Tabela 3).

Tabela 3. Qualidade fisiológica de sementes de mamão híbrido JS12 x Waimanalo não envelhecidas (NEA) e submetidas ao envelhecimento acelerado (EA): porcentagem de germinação (G), segunda contagem de germinação (SCG), índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de plântulas normais (PN), comprimento da parte aérea (CPA), da raiz (CR), massa fresca (MF) e massa seca (MS) das plântulas normais

| Tratamentos | G | SCG | IVG | PN |
|------------------|--------------------|-------|---------|--------------------|
| NEA | 91 | 84 | 2,13 | 88 |
| EA | 82 | 67 | 1,61 | 80 |
| F _{cal} | 4,41 ^{ns} | 6,24* | 37,64** | 3,00 ^{ns} |
| CV (%) | 7,00 | 12,75 | 6,38 | 7,78 |
| | CPA | CR | MF | MS |
| NEA | 7,26 | 5,26 | 96,25 | 4,70 |
| EA | 6,25 | 3,56 | 76,15 | 4,14 |
| F _{cal} | 5,52 ^{ns} | 7,51* | 29,72** | 13,48* |
| CV (%) | 9,00 | 19,89 | 6,05 | 4,90 |

*, ** e ^{ns} = Significativo em nível de 5 e 1%, respectivamente, e não significativo pelo teste F. F_{cal} = valor de F calculado obtido pela análise de variância. CV (%) = coeficiente de variação (n = 4).

As sementes não envelhecidas (NEA) apresentaram menor teor de açúcares solúveis após 240 horas de embebição, e maior teor de proteínas totais após 10 e após 240 horas de embebição. Já os teores de amido e de lipídios não sofreram influência do envelhecimento (Tabela 4).

Tabela 4. Teores de açúcares solúveis, amido, lipídeo e proteínas totais, expressos em porcentagem (m m^{-1}), durante as fases de germinação de sementes de mamão híbrido JS12 x Waimanalo não envelhecidas (NEA) e submetidas ao envelhecimento acelerado (EA)

| Tratamentos | Tempo (h) | | | | | Médias |
|--|-----------------------|---------------------|---------|---------|---------|--------|
| | 0 | 4 | 10 | 120 | 240 | |
| | Açúcares solúveis (%) | | | | | |
| NEA | 5,93 a | 3,63 a | 5,66 a | 4,98 a | 4,34 b | 4,90 |
| EA | 4,80 a | 4,80 a | 5,81 a | 4,20 a | 5,36 a | 4,99 |
| Médias | 5,37 | 4,22 | 5,74 | 4,59 | 4,85 | |
| F_{cal} (temperatura x tempo) | | 7,37 ^{**} | | | | |
| CV (%) | | 10,91 | | | | |
| | Amido (%) | | | | | |
| NEA | 0,59 | 0,45 | 0,53 | 0,51 | 0,52 | 0,52 a |
| EA | 0,60 | 0,56 | 0,55 | 0,46 | 0,52 | 0,54 a |
| Médias | 0,60 | 0,51 | 0,54 | 0,49 | 0,52 | |
| F_{cal} (tratamento) | | 0,59 ^{ns} | | | | |
| F_{cal} (tempo) | | 2,27 ^{ns} | | | | |
| CV (%) | | 14,61 | | | | |
| | Lipídios (%) | | | | | |
| NEA | 4,32 | 2,01 | 2,52 | 2,43 | 2,91 | 2,84 a |
| EA | 3,67 | 2,93 | 2,51 | 2,48 | 3,65 | 3,04 a |
| Médias | 4,00 | 2,47 | 2,52 | 2,46 | 3,28 | |
| F_{cal} (tratamento) | | 1,43 ^{ns} | | | | |
| F_{cal} (tempo) | | 12,44 ^{**} | | | | |
| CV (%) | | 18,65 | | | | |
| | Proteínas totais (%) | | | | | |
| NEA | 29,12 a | 22,53 b | 28,07 a | 27,17 b | 30,52 a | 27,48 |
| EA | 28,28 a | 28,68 a | 27,13 b | 29,79 a | 29,31 b | 28,64 |
| Médias | 28,70 | 25,61 | 27,60 | 28,48 | 29,92 | |
| F_{cal} (temperatura x tempo) | | 55,49 ^{**} | | | | |
| CV (%) | | 2,17 | | | | |

^{*}, ^{**} e ^{ns} = Significativo em nível de 5 e 1%, respectivamente, e não significativo pelo teste F. F_{cal} = valor de F calculado obtido pela análise de variância. CV (%) = coeficiente de variação (n = 4).

Para as sementes não envelhecidas (NEA) observou-se redução linear do teor de açúcares, com redução expressiva após quatro horas de embebição (de 5,93 para 3,63%). Já nas sementes envelhecidas (EA), observou-se tendência ao aumento ao final da germinação (Figura 3A). Em geral, os açúcares solúveis representam os substratos iniciais utilizados como fonte de energia na germinação, sendo esperada a redução nos teores destes compostos

(FERREIRA; BORGHETTI, 2004), conforme observado nas sementes não envelhecidas (NEA).

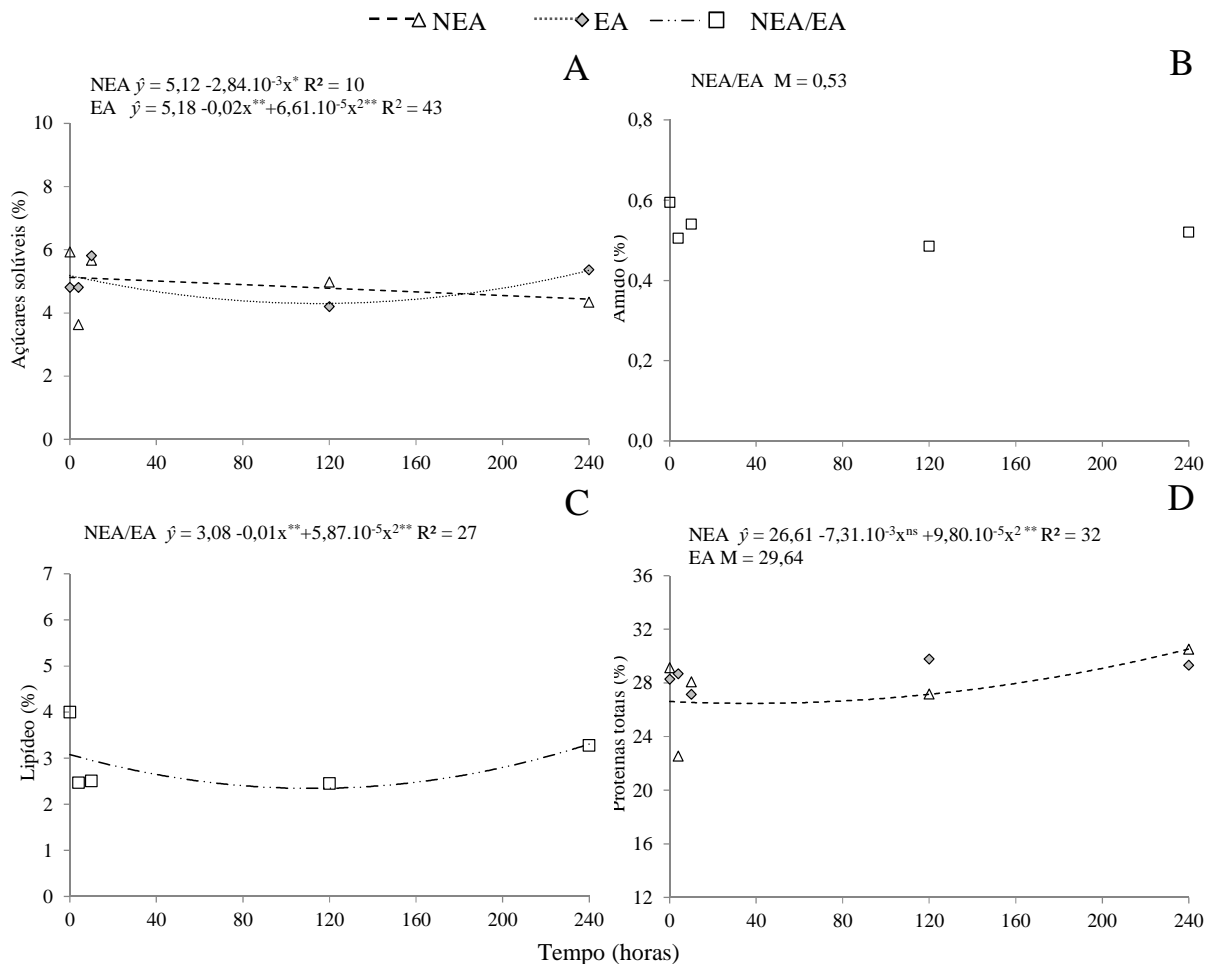


Figura 3. Mobilização de reservas durante a germinação de sementes de mamão híbrido JS12 x Waimanalo não envelhecidas (NEA), submetidas ao envelhecimento acelerado (EA), ou à média dos dois tratamentos (NEA/EA) (interação não significativa): A – teor de açúcares solúveis; B – teor de amido; C – teor de lipídeo; D – teor de proteínas totais. Valores expressos em porcentagem (em base de massa: mg mg^{-1}). \hat{y} estimado; M – média do(s) tratamento(s); *, ** Significativo em nível de 5 e 1%, respectivamente; ^{ns} = não significativo.

O teor de amido permaneceu constante durante as fases da germinação (0,53%) (Figura 3B).

O teor de lipídios apresentou redução após quatro e 10 horas (fase I e início da fase II), e tendência ao aumento após 120 horas (final da fase II) e 240 horas de embebição (fase III) (Figura 3C). Assim, independente do EA, a mobilização dos lipídios apresentou comportamento similar ao observado para sementes submetidas à alternância de temperatura (Figura 2C), que apresentaram elevada germinação (Tabela 2). Logo, a mobilização dos lipídios não sofreu influência do envelhecimento acelerado e, embora tenham apresentado redução no vigor (menor velocidade de germinação e redução do desenvolvimento das plântulas), as sementes submetidas ao EA não apresentaram redução das porcentagens de germinação e de plântulas normais.

O teor de proteínas totais em sementes não envelhecidas (NEA) apresentou tendência ao aumento durante as fases II e III, com ajuste ao modelo quadrático. Nas sementes envelhecidas (EA), não houve ajuste aos modelos de regressão (Figura 3D). No processo de deterioração das sementes, pode ocorrer decréscimo do teor e da síntese de proteínas, além da desnaturação provocada por temperaturas altas (BEWLEY; BLACK, 1994; MARCOS FILHO, 2005; KIM et al., 2011). Como consequência, o número de células em divisão e o índice mitótico podem ser afetados, conforme observado em sementes de *Triticum aestivum* (MENEZES et al., 2014).

Em sementes de *Tabebuia roseoalba*, observou-se redução da qualidade fisiológica das sementes provocada pelo armazenamento, com redução dos níveis de proteínas (ABBADÉ; TAKAKI, 2014). O envelhecimento acelerado fornece uma condição favorável à deterioração de sementes, similar ao armazenamento. Assim, o menor teor de proteínas observado nas sementes envelhecidas na fase III, sugere que a redução do vigor das sementes submetidas ao envelhecimento pode ter relação com o comprometimento da mobilização de proteínas.

CONCLUSÕES

A fase I da absorção de água durante a germinação de sementes de mamão (*Carica papaya* L.) compreende o período entre zero e cinco horas de embebição; a fase II, entre cinco e 120 horas; a fase III tem início após 144 horas de embebição.

As sementes de mamão apresentam maior germinação sob alternância de temperatura, com menores teores de açúcares, amido, lipídios e proteínas na fase I da germinação, mobilização de lipídios, e aumento nos teores de proteínas durante as fases II e III.

A mobilização dos lipídios em sementes de mamão não sofre influência do envelhecimento acelerado. No entanto, as sementes submetidas ao envelhecimento apresentam menor teor de proteínas na fase III, o que pode ter relação com a redução do vigor.

REFERÊNCIAS

ABBADE, L. C.; TAKAKI, M. Biochemical and physiological changes of *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith (Bignoniaceae) seeds under storage. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 1, p. 100-107, 2014.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2nd ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

CORTE, V. B.; BORGES, E. E. L.; VENTRELLA, M. C.; LEITE, I. T. A.; BRAGA, A. J. T. Histochemical aspects of reserves mobilization of *Caesalpinia peltophoroides* (Leguminosae) seeds during germination and seedlings early growth. **Revista Arvore**, v. 32, n. 4, p. 641-650, 2008.

COSTA, P. N.; BUENO, S. S. C.; FERREIRA, G. Fases da germinação de sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 253-260, 2011.

DANTAS, B. F.; RIBEIRO, R. C.; MATIAS, J. R.; ARAÚJO, G. G. L. Germinative metabolism of Caatinga forest species in biosaline agriculture. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 2, p. 194-203, 2014.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004, 323p.

GALVANI, F.; GAERTNER, E. **Adequação da Metodologia Kjeldahl para determinação de Nitrogênio Total e Proteína Bruta** (Circular Técnica 63). Corumbá: Embrapa Pantanal, 2006. 9p.

HENNING, F. A.; MERTZ, L. M.; JACOB JUNIOR, E. A.; MACHADO, R. D.; FISS, G.; ZIMMER, P. D. Composição química e mobilização de reservas em sementes de soja de alto e baixo vigor. **Bragantia**, v. 69, n. 3, p. 727-734, 2010.

KIM, H. T.; CHOI, U.; RYU, H. S.; LEE, S. J.; KWON, O. Mobilization of storage proteins in soybean seed (*Glycine max* L.) during germination and seedling growth. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1814, p. 1178–1187, 2011.

MAGALHÃES, S. R.; LIMA E BORGES, E. E.; BERGER, A. P. A. Alterações nas atividades das enzimas alfa-galactosidase e poligalacturonase e nas reservas de carboidratos de sementes de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Guapuruvú) durante a germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 2, p. 253-261, 2009.

MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, p. 176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MENEZES, V. O.; LOPES, S. J.; TEDESCO, S. B.; HENNING, F. A.; ZEN, H. D.; MERTZ, L. M. Cytogenetic analysis of wheat seeds submitted to artificial aging stress. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 1, p. 71-78, 2014.

NONOGAKIA, H.; BASSELB, G. W.; BEWLEY, J. D. Germination - Still a mystery. **Plant Science**, v. 179, p. 574-581, 2010.

PASCUALIDES, A. L.; PLANCHUELO, A. M. Seed morphology and imbibition pattern of *Crotalaria juncea* L. (Fabaceae). **Seed Science & Technology**, v. 35, p. 760-764, 2007.

PONTES, C. A.; BORGES, E. E. L.; BORGES, R. C. G.; SOARES, C. P. B. Mobilização de reservas em sementes de *Apuleia leiocarpa* (Vogel) J.F. Macbr. (Garapa) durante a embebição. **Revista Árvore**, v. 26, n. 5, p. 593-601, 2002.

REIS, R. C. R.; DANTAS, B. F.; PELACANI, C. R. Mobilization of reserves and germination of seeds of *Erythrina velutina* Willd. (Leguminosae-Papilionoideae) under different osmotic potentials. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 4, p. 580-588, 2012.

REN, C.; BILYEU, K. D.; ROBERTS, C. A.; BEUSELINCK, P. R. Factors regulating the mobilization of storage reserves in soybean cotyledons during post-germinative growth. **Seed Science & Technology**, v. 35, p. 303-317, 2007.

SILVA, R. N.; DUARTE, G. L.; LOPES, N. F.; MORAES, D. M.; PEREIRA, A. L. A. Composição química de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.) submetidas a estresse salino na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 1, p. 215-220, 2008.

THE R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING PLATAFORM. **R** - A language and environment for statistical computing. Version 3.1.1 Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2014.

YEMN, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrate in plant extracts by anthrone. **The Biochemical Journal**, v. 57, p. 508-514, 1954.

ZANOTTI, R. F.; DIAS, D. C. F. S.; BARROS, R. S.; DAMATTA, F. M.; OLIVEIRA, G. L. Germination and biochemical changes in 'Formosa' papaya seeds treated with plant hormones. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 36, n. 4, p. 435-442, 2014.

ZHU, C.; CHEN, J. Changes in soluble sugar and antioxidant enzymes in peanut seeds during ultra dry storage and after accelerated aging. **Seed Science & Technology**, v. 35, n. 2, p. 387-401, 2007.

CAPÍTULO II

ANÁLISE DE DIVERSIDADE EM GENÓTIPOS DE MAMOEIRO COM BASE NA QUALIDADE DE SEMENTES⁷

⁷ Artigo aceito para publicação em 03-02-2015, na revista *Australian Journal of Crop Science*.

ANÁLISE DE DIVERSIDADE EM GENÓTIPOS DE MAMOEIRO COM BASE NA QUALIDADE DE SEMENTES

RESUMO: Objetivou-se identificar o genótipo de mamoeiro de maior desempenho inicial por meio de análises de diversidade e parâmetros genéticos relacionados às características físico-químicas e fisiológicas das sementes. Foi avaliada a qualidade das sementes: umidade, tamanho e peso, teores de açúcares solúveis, amido, lipídios e proteínas, porcentagem de germinação, primeira, segunda e terceira contagem de germinação, índice de velocidade e tempo médio de germinação, porcentagem de plântulas normais e anormais, além do comprimento da parte aérea e da raiz, massa fresca e massa seca das plântulas. As médias foram comparadas por teste de Tukey e foram estimadas as correlações simples (Pearson) e genéticas entre as características. Para a identificação do genótipo de maior desempenho inicial, foram aplicados métodos de agrupamento e o índice de soma de Ranks. Foram determinadas as características de maior importância na discriminação dos genótipos, e estimados os parâmetros genéticos para cada característica. O híbrido UENF/Caliman 01 apresenta maior desempenho inicial. A análise de diversidade pelos métodos de agrupamento UPGMA e componentes principais foi eficiente para discriminar o genótipo de maior desempenho inicial. A característica segunda contagem de germinação apresenta maior importância para as análises de diversidade entre os genótipos de mamoeiro.

Palavras-chave: *Carica papaya*, agrupamento, germinação, melhoramento de plantas, vigor.

ABSTRACT: The objective of this study was to identify the genotype of papaya with the highest initial performance through the analysis of diversity and genetic parameters related to the physicochemical and physiological characteristics of the seeds. Seed quality was assessed

through the following parameters: moisture, size, weight, the levels of soluble sugars, starch, lipids, and proteins, the germination percentage, the first, second and third counts of germination, the speed of germination index, the mean germination time, the percentages of normal and abnormal seedlings, the shoot and root lengths, and the fresh and dry masses of the seedlings. Means were compared using the Tukey test, and the simple (Pearson) and genetic correlations between characteristics were estimated. For identification of the genotype with the highest initial performance, clustering methods and the sum of rank index were applied. The characteristics of greatest importance in the discrimination of the genotypes and the genetic parameters for each characteristic were estimated. The UENF/Caliman 01 hybrid had the highest initial performance. The clusters from the diversity analysis using UPGMA and principal components analysis was efficient at discriminating the genotype with the greatest initial performance. Of the characteristics analysed, the second count of germination was most important for the analysis of diversity among the genotypes of papaya.

Keywords: *Carica papaya*, clustering, germination, plant breeding, vigour.

INTRODUÇÃO

A propagação comercial do mamoeiro (*Carica papaya* L.) é realizada por sementes, que desempenham um papel importante na obtenção e na difusão das características genéticas incorporadas às variedades melhoradas, e são responsáveis pela produtividade. A avaliação da qualidade de sementes pode levantar informações relevantes quanto à obtenção de mudas vigorosas e saudáveis e de plantas mais produtivas (POPINIGS, 1985; MARCOS FILHO, 2005; RUGGIERO et al., 2011).

A fim de promover o desenvolvimento da cultura do mamoeiro é necessário desenvolver e identificar variedades adaptadas ambiental, social e economicamente às regiões produtoras, além de proporcionar aos produtores sementes de ótima qualidade, com reflexo na produtividade (RUGGIERO et al., 2011). Sementes de qualidade apresentam “padrão de excelência” de um conjunto de características que determinam o seu potencial de desempenho após a semeadura em campo. A qualidade fisiológica das sementes é caracterizada, principalmente, pela sua germinação e pelo seu vigor. A qualidade físico-química de sementes envolve aspectos morfológicos e características como tamanho e umidade, composição bioquímica e a associação dessas características com vigor (POPINIGS, 1985; MARCOS FILHO, 2005).

Os fatores genéticos estão entre os principais responsáveis pela qualidade fisiológica das sementes (POPINIGS, 1985). Trabalhos indicam que a divergência genética atua sobre a germinação e o vigor de sementes de diferentes genótipos de mamoeiro. Muitas características morfofisiológicas relacionadas à qualidade de sementes apresentam elevada herdabilidade, indicando que podem ser exploradas no melhoramento desta espécie (CARDOSO et al., 2009; MACEDO et al., 2013).

A avaliação de multicaracterísticas e das suas relações podem conduzir a análises informativas e eficientes para caracterizar os indivíduos em vários aspectos, proporcionando uma visão holística de um genótipo (CRUZ et al., 2011). O estudo da variabilidade genética, da relação entre as características e da estimativa da sua herdabilidade trazem informações fundamentais para a seleção de genótipos de mamoeiro (MARIN et al., 2006; SILVA et al., 2007; 2008; OLIVEIRA et al., 2010; 2012; DIAS et al., 2011; FERREIRA et al., 2012), permitindo o agrupamento de materiais genéticos similares e a identificação de genótipos de destaque para determinados caracteres de interesse agrônomo (CRUZ et al., 2011), como a germinação e o vigor. Tais informações podem auxiliar na seleção de progenitores visando à

obtenção de genótipos de maior desempenho germinativo, bem como na avaliação de novas cultivares.

Assim, objetivou-se, com este trabalho, identificar genótipos de mamoeiro (*C. papaya* L.) de maior desempenho inicial por meio de análises de diversidade e parâmetros genéticos relacionados às características físico-químicas e fisiológicas das sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES). Foram utilizadas sementes de oito genótipos de mamoeiro (*C. papaya* L.): híbrido UENF/Caliman 01 geração F₂ (G1); Golden (G2); híbrido Tainung 01 geração F₂ (G3); híbrido UENF/Caliman 01 (G4); Sunrise Solo (G5); Golden THB (G6); Híbrido Triplo (G7); e híbrido JS12 x Waimanalo (G8). O material foi fornecido pela empresa Caliman Agrícola S/A.

Caracterização físico-química: a umidade inicial das sementes (U) foi determinada pelo método de estufa a 105 ± 3 °C por 24 h, adaptado de Brasil (2009), utilizando-se quatro subamostras de 0,18 g para cada genótipo e os resultados expressos em porcentagem (base úmida). O tamanho das sementes foi obtido pela medição com auxílio de um paquímetro digital, sendo o comprimento (C) caracterizado como a distância entre a base e o ápice, e o diâmetro (D) a medida da porção mediana das sementes (mm). O peso de mil sementes (PMS) foi calculado de acordo com Brasil (2009). A caracterização bioquímica das sementes dos diferentes genótipos foi realizada de acordo com metodologia descrita no Capítulo I (p. 68).

Qualidade fisiológica: as sementes foram distribuídas em rolos de papel (três folhas de papel germitest), umedecidos com água destilada na proporção equivalente a 2,5 vezes a

massa do papel seco, e mantidas em câmara de germinação tipo BOD regulada à temperatura alternada de 20 – 30 °C.

Foram avaliados: porcentagem de germinação (G); primeira contagem de germinação (PCG); segunda contagem de germinação (SCG); e terceira contagem de germinação (TCG); índice de velocidade de germinação (IVG); tempo médio de germinação (TMG); porcentagem de plântulas normais (PN) e anormais (PA); comprimento da parte aérea (CPA) e da raiz (CR); massa fresca (MF) e massa seca (MS) das plântulas normais, conforme metodologia descrita no Capítulo I (p. 68).

Delineamento e análise estatística: o experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições de 25 sementes por tratamento, sendo estes representados pelos oito genótipos. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Scott-Knott (THE R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING PLATAFORM, 2014).

Foram estimadas as correlações simples (Pearson) entre as características da qualidade física (U, C, D, PMS), bioquímica (A, Am, L e P) e fisiológica (G, PCG, SCG, TCG, IVG, TMG, PN, PA, CPA, CR, MF e MS) das sementes. Para a identificação do genótipo de maior desempenho inicial, foi obtida a Distância Euclidiana Média Padronizada e, posteriormente, aplicado o método de agrupamento hierárquico de Ligação Média entre Grupo (UPGMA). A partir das médias das características foram estimados os componentes principais e analisada a sua dispersão gráfica na formação de grupos; foi aplicado o índice de soma de Ranks (MULAMBA; MOCK, 1978) para o ranqueamento visando à seleção de genótipos de maior desempenho. Para a determinação das características de maior importância na discriminação dos genótipos, foram identificadas as características de maior peso nos primeiros autovetores da análise de componentes principais; foi realizada a análise de contribuição relativa de Singh

(1981); e foram estimados os parâmetros genéticos para cada característica. As análises foram realizadas utilizando o programa Genes (CRUZ, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a caracterização físico-química das sementes, observaram-se médias de umidade entre 5,01% (Híbrido Triplo - G7) e 7,90% (cv. Golden - G2) (Tabela 1). Estes são considerados teores de água adequados para a manutenção da viabilidade das sementes durante o armazenamento (MARCOS FILHO, 2005; BERBERT et al., 2008, DIAS et al., 2010).

Tabela 1. Características físico-químicas das sementes de genótipos de mamoeiro: umidade (U), comprimento (C) e diâmetro (D), peso de mil sementes (PMS), teores de açúcares solúveis (A), amido (Am), lipídios (L) e proteínas totais (P)

| Genótipos | U (%) | C (mm) | D (mm) | PMS (g) |
|-------------------------------------|---------|---------|---------|--------------------|
| UENF/Caliman 01 F ₂ (G1) | 7,60 a | 0,42 c | 0,27 b | 16,90 a |
| Golden (G2) | 7,90 a | 0,42 c | 0,26 b | 12,65 b |
| Tainung 01 F ₂ (G3) | 5,58 e | 0,36 d | 0,22 c | 14,40 b |
| UENF/Caliman 01(G4) | 7,00 b | 0,55 a | 0,30 a | 18,18 a |
| Sunrise Solo (G5) | 6,41 c | 0,45 c | 0,30 a | 14,20 b |
| Golden THB (G6) | 5,97 d | 0,44 c | 0,31 a | 12,88 b |
| Híbrido Triplo (G7) | 5,01 f | 0,50 b | 0,29 a | 15,80 a |
| JS12 x Waimanalo (G8) | 5,81 d | 0,51 b | 0,32 a | 12,75 b |
| F _{cal} | 37,36** | 25,89** | 16,24** | 9,37** |
| CV (%) | 5,17 | 5,15 | 8,83 | 9,16 |
| | A (%) | Am (%) | L (%) | P (%) |
| UENF/Caliman 01 F ₂ (G1) | 2,93 c | 0,46 b | 7,55 b | 28,23 |
| Golden (G2) | 3,35 c | 0,48 b | 12,71 a | 28,13 |
| Tainung 01 F ₂ (G3) | 3,47 c | 0,43 b | 7,78 b | 28,50 |
| UENF/Caliman 01(G4) | 5,13 b | 0,58 a | 11,58 a | 28,56 |
| Sunrise Solo (G5) | 2,68 c | 0,35 b | 10,21 a | 27,50 |
| Golden THB (G6) | 5,46 b | 0,50 b | 12,04 a | 27,81 |
| Híbrido Triplo (G7) | 4,49 b | 0,41 b | 12,07 a | 28,00 |
| JS12 x Waimanalo (G8) | 6,38 a | 0,62 a | 4,33 c | 29,13 |
| F _{cal} | 14,43** | 6,00** | 13,50** | 0,90 ^{ns} |
| CV (%) | 16,57 | 14,99 | 16,43 | 3,67 |

Médias seguidas de letras iguais (colunas) são agrupadas pelo teste de Scott-Knott em nível de 1% (**) de probabilidade (n=4). ^{ns} = não significativo. F_{cal} = valor de F calculado obtido pela análise de variância. CV (%) = coeficiente de variação.

Berbert et al. (2008) verificaram que a secagem das sementes de mamão híbrido UENF/Caliman 01 para teor de água de 7,7% tem efeito positivo sobre o seu vigor, valor aproximado ao verificado neste trabalho para o híbrido UENF/Caliman 01 F₂ (G1), cv. Golden (G2) e híbrido UENF/Caliman 01 (G4). No entanto, teores de água muito baixos, como observado para o Híbrido Triplo (G7) (5,01%) podem prejudicar a embebição, uma vez que a diferença de potencial hídrico entre o ambiente e o meio intracelular leva a uma absorção de água muito rápida, comprometendo o processo germinativo (MARCOS FILHO, 2005).

As sementes do híbrido UENF/Caliman 01 apresentaram maior comprimento e maior diâmetro médio, não diferindo das sementes das cvs. Sunrise Solo (G5) e Golden THB (G6), Híbrido Triplo (G7) e híbrido JS12 x Waimanalo (G8) (Tabela 1).

Os híbridos UENF/Caliman 01 F₂ (G1), UENF/Caliman 01 (G4) e Híbrido Triplo (G7) apresentaram maior peso de mil sementes (PMS) (Tabela 1). Segundo Martins et al. (2005), sementes de mamão híbrido Tainung 01 de maior peso (PMS entre 17 e 19 g) apresentam maior vigor, valor correspondente ao verificado neste trabalho para o híbrido UENF/Caliman 01 (G4) (18,18 g).

As sementes do híbrido JS12 x Waimanalo (G8) apresentaram maior teor de açúcares solúveis (6,38%), assim como de amido (0,62%), o qual foi estatisticamente semelhante ao híbrido UENF/Caliman 01 (G4) (0,58%). No entanto, o híbrido JS12 x Waimanalo (G8) apresentou teor reduzido de lipídios (4,33%), enquanto o teor de lipídios observado no híbrido UENF/Caliman 01 (G4) encontra-se entre as maiores médias (11,58%) (Tabela 1).

Maiores teores de lipídios ($\geq 10,21\%$) foram observados para a cv. Golden (G2), híbrido UENF/Caliman 01 (G4), cv. Sunrise Solo (G5), cv. Golden THB (G6) e Híbrido Triplo (G7). Os teores de proteínas não apresentam diferença entre os genótipos (Tabela 1).

Os açúcares solúveis e o amido representam as formas de energia mais prontamente disponíveis, embora menos eficientes que os lipídios (MARCOS FILHO, 2005). Assim, os híbridos JS12 x Waimanalo (G8) e UENF/Caliman 01 (G4) apresentam maior reserva de energia, o que pode refletir em maior desempenho.

Sementes destes híbridos (G4 e G8) apresentaram maiores porcentagens de germinação (94 e 96%) e maiores médias de contagem de germinação após 14 dias (94 e 82%, respectivamente) (Tabela 2). O híbrido UENF/Caliman 01 (G4) apresentou germinação mais rápida: maior média de IVG (2,30) e, na segunda contagem de germinação, já apresentava valor máximo de germinação (94%). Além disso, na primeira contagem, o híbrido

UENF/Caliman 01 (G4), cv. Sunrise Solo (G5) e híbrido JS12 x Waimanalo (G8) foram os únicos genótipos que apresentaram germinação.

O híbrido UENF/Caliman 01 (G4) destaca-se também com relação à porcentagem de plântulas normais, sendo que, juntamente com o híbrido Tainung 01 F₂ (G3) apresentaram mais de 90% de plântulas normais, enquanto as cvs. Golden (G2) e Sunrise Solo (G5) apresentaram maior porcentagem de anormalidade das plântulas ($\geq 25\%$).

Desta forma, com base nas características físico-químicas (tamanho, teor de amido e lipídios) e fisiológicas (porcentagem e velocidade de germinação, e plântulas normais), o híbrido UENF/Caliman 01 (G4) apresenta maior qualidade das sementes.

A avaliação do desenvolvimento das plântulas, porém, apresenta grande variação com relação aos diferentes genótipos (Tabela 2). A cv. Golden THB (G6) apresentou maiores médias de comprimento de parte aérea e de raiz enquanto o híbrido UENF/Caliman 01 F₂ (G1) e a cv. Golden (G2) apresentaram as menores médias. De forma contrastante, o híbrido UENF/Caliman 01 F₂ (G1) apresentou maior média de massa seca, e o híbrido UENF/Caliman 01 (G4), a menor média.

Tabela 2. Características fisiológicas das sementes de genótipos de mamoeiro: porcentagem de germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), segunda contagem de germinação (SCG), terceira contagem de germinação (TCG), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG), em dias, porcentagem de plântulas normais (PN) e anormais (PA), comprimento de parte aérea (CPA) e da raiz (CR), massa fresca (MF) e massa seca (MS) de plântulas normais

| Genótipos | G (%) | PCG (%) ¹ | SCG (%) | TCG (%) |
|-------------------------------------|----------|-------------------------|----------------------|---------|
| UENF/Caliman 01 F ₂ (G1) | 86 b | 0 | 24 c | 85 b |
| Golden (G2) | 74 c | 0 | 21 c | 70 c |
| Tainung 01 F ₂ (G3) | 66 c | 0 | 28 c | 65 c |
| UENF/Caliman 01(G4) | 94 a | 6 | 94 a | 94 a |
| Sunrise Solo (G5) | 80 b | 5 | 59 b | 77 b |
| Golden THB (G6) | 72 c | 0 | 35 b | 69 c |
| Híbrido Triplo (G7) | 72 c | 0 | 33 b | 72 c |
| JS12 x Waimanalo (G8) | 96 a | 10 | 82 a | 96 a |
| F _{cal} | 11,24** | - | 45,44** | 12,44** |
| CV (%) | 8,83 | - | 12,11 | 9,01 |
| | IVG | TMG (dias) ¹ | PN (%) | PA (%) |
| UENF/Caliman 01 F ₂ (G1) | 1,41 c | 15,33 | 81,79 b | 18,21 b |
| Golden (G2) | 1,21 d | 15,57 | 74,71 c | 25,29 a |
| Tainung 01 F ₂ (G3) | 1,11 d | 15,08 | 92,06 a | 7,94 c |
| UENF/Caliman 01(G4) | 2,30 a | 9,15 | 98,08 a | 1,92 c |
| Sunrise Solo (G5) | 1,40 c | 12,97 | 73,12 c | 26,88 a |
| Golden THB (G6) | 1,20 d | 15,36 | 86,53 b | 13,47 b |
| Híbrido Triplo (G7) | 1,27 d | 14,56 | 85,39 b | 14,61 b |
| JS12 x Waimanalo (G8) | 1,76 b | 11,26 | 83,69 b | 16,31 b |
| F _{cal} | 30,80** | - | 9,61** | 9,61* |
| CV (%) | 3,50 | - | 6,33 | 34,28 |
| | CPA (cm) | CR (cm) | MF (mg) ¹ | MS (mg) |
| UENF/Caliman 01 F ₂ (G1) | 2,79 c | 0,74 e | 61,18 | 5,35 a |
| Golden (G2) | 2,87 c | 0,54 e | 45,19 | 4,25 b |
| Tainung 01 F ₂ (G3) | 4,86 b | 1,98 b | 57,97 | 3,47 c |
| UENF/Caliman 01(G4) | 4,79 b | 1,61 c | 98,81 | 2,49 d |
| Sunrise Solo (G5) | 4,72 b | 1,49 c | 59,80 | 4,05 b |
| Golden THB (G6) | 6,15 a | 3,44 a | 69,71 | 3,62 c |
| Híbrido Triplo (G7) | 4,82 b | 1,47 c | 54,81 | 3,46 c |
| JS12 x Waimanalo (G8) | 4,35 b | 1,08 d | 56,47 | 3,08 c |
| F _{cal} | 21,78** | 39,84** | - | 18,54** |
| CV (%) | 10,76 | 18,45 | - | 10,65 |

Médias seguidas de letras iguais (colunas) são agrupadas pelo teste de Scott-Knott em nível de 5% (*) e 1% (**) de probabilidade (n=4). F_{cal} = valor de F calculado obtido pela análise de variância. CV (%) = coeficiente de variação. ¹Dados não apresentam normalidade e, portanto, não foi possível realizar análise de variância.

Os dados divergentes entre a germinação e as características das plântulas sugerem haver uma relação inversa destas com a velocidade de germinação. A cv. Golden THB (G6) e o híbrido UENF/Caliman 01 F₂ (G1) estão entre os genótipos com as menores médias de IVG, ou seja, a germinação ocorreu mais lentamente. No entanto, estes genótipos apresentam maior comprimento e massa seca das plântulas, respectivamente. Já o híbrido UENF/Caliman 01 (G4) apresentou maior IVG, mas menores médias para as características relacionadas ao desenvolvimento das plântulas. O tempo médio de germinação do híbrido UENF/Caliman 01 (G4) foi de, aproximadamente, nove dias, enquanto da cv. Golden THB (G6) e do híbrido UENF/Caliman 01 F₂ (G1) foi de 15 dias. Assim, embora as sementes do híbrido UENF/Caliman 01 (G4) apresentem maior qualidade (e germinação ter sido mais rápida), possivelmente devido ao tempo de permanência no substrato após a germinação, as plântulas sofreram deterioração, resultando em médias inferiores para comprimento e massa das plântulas.

A análise de correlação evidenciou que a característica segunda contagem de germinação (SCG) apresenta correlação negativa com a massa seca (MS) (Tabela 3), sugerindo que a antecipação da germinação realmente favorece a deterioração e a perda da massa seca das plântulas.

Tabela 3. Correlações de Pearson entre as características físicas, bioquímicas e fisiológicas das sementes de mamoeiro: umidade (U), comprimento (C), diâmetro (D), peso de mil sementes (PMS), teores de açúcares solúveis (A), amido (Am), lipídios (L) e proteínas totais (P), porcentagem de germinação (G), primeira (PC), segunda (SC) e terceira contagem de germinação (TC), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG), porcentagem de plântulas normais (PN) e anormais (PA), comprimento de parte aérea (CPA) e da raiz (CR), massa fresca (MF) e massa seca (MS)

| Características | U | C | D | PMS | A | Am | L | P | G | PC | SC | TC | IVG | TMG | PN | PA | CPA | CR | MF | MS |
|-----------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|
| U | - | -0,14 | -0,04 | 0,15 | -0,41 | 0,14 | 0,17 | 0,05 | 0,29 | -0,76 | -0,44 | 0,21 | 0,18 | 0,04 | -0,31 | 0,31 | -0,72* | -0,51 | 0,07 | 0,50 |
| C | - | - | 0,81* | 0,34 | 0,64 | 0,54 | 0,06 | 0,26 | 0,71* | 0,34 | 0,86** | 0,73* | 0,81* | -0,81* | 0,29 | -0,29 | 0,22 | -0,05 | 0,55 | -0,61 |
| D | - | - | - | -0,01 | 0,59 | 0,42 | 0,38 | -0,02 | 0,64 | 1,00* | 0,81* | 0,61 | 0,55 | -0,56 | -0,09 | 0,09 | 0,29 | 0,14 | 0,37 | -0,30 |
| PMS | - | - | - | - | -0,16 | -0,01 | 0,11 | 0,04 | 0,33 | -0,56 | 0,10 | 0,39 | 0,55 | -0,40 | 0,53 | -0,53 | -0,12 | -0,16 | 0,66 | -0,06 |
| A | - | - | - | - | - | 0,80* | -0,20 | 0,56 | 0,42 | 0,87 | 0,69 | 0,45 | 0,45 | -0,49 | -0,48 | 0,48 | 0,49 | 0,36 | 0,34 | -0,70 |
| Am | - | - | - | - | - | - | -0,33 | 0,80* | 0,68 | 0,75 | 0,41 | 0,68 | 0,66 | -0,57 | -0,45 | 0,45 | 0,01 | -0,03 | 0,42 | -0,49 |
| L | - | - | - | - | - | - | - | -0,67 | -0,45 | -0,93 | -0,08 | -0,48 | -0,13 | 0,19 | -0,04 | 0,04 | 0,18 | 0,26 | 0,17 | -0,06 |
| P | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,54 | 0,88 | 0,17 | 0,58 | 0,47 | -0,46 | 0,47 | -0,47 | -0,18 | -0,29 | 0,13 | -0,40 |
| G | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,74 | 0,56 | 0,99** | 0,86** | -0,79* | 0,14 | -0,14 | -0,23 | -0,37 | 0,46 | -0,22 |
| PC | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,72 | 0,72 | 0,71 | -0,13 | 0,10 | -0,10 | -0,95 | -0,92 | 0,39 | -0,32 |
| SC | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,58 | 0,66 | -0,79 | 0,28 | -0,28 | 0,58 | 0,28 | 0,52 | -0,72* |
| TC | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,87** | -0,81* | 0,22 | -0,22 | -0,20 | -0,37 | 0,49 | -0,26 |
| IVG | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | -0,94** | 0,48 | -0,48 | 0,02 | -0,17 | 0,78* | -0,55 |
| TMG | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | -0,44 | 0,44 | -0,19 | 0,09 | -0,70 | 0,70 |
| PN | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1,00** | 0,44 | 0,40 | 0,72* | -0,64 |
| PA | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | -0,44 | 0,40 | -0,72* | 0,64 |
| CPA | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,91** | 0,40 | -0,63 |
| CR | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,36 | -0,36 |
| MF | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | -0,53 |
| MS | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

A significância pelo teste t a 5 ou 1 % é representado por * ou ** respectivamente.

Correlação significativa também foi observada entre IVG e TMG; IVG e MF; PN e PA, de ambas com MF; e de CPA com CR (Tabela 3).

G e TCG apresentam correlação positiva significativa de 0,99 (Tabela 3), sendo que os valores médios para estas características foram muito próximos (Tabela 2). Isto sugere que, após 21 dias, a germinação de praticamente todos os genótipos apresentava estabilidade. Sendo assim, a avaliação da germinação total, bem como do desenvolvimento das plântulas poderia ser antecipada para 21 dias, evitando a deterioração das plântulas (e redução da MS), conforme observado no híbrido UENF/Caliman 01 (G4).

Ainda, G e TCG apresentaram correlação positiva com IVG, e negativa com TMG. Observa-se, assim, associação da porcentagem com a velocidade de germinação, o que representa um importante teste de vigor. O índice de velocidade e o tempo médio de germinação trazem informações importantes para a formação de um estande ideal de plantas vigorosas (AOSA, 2002; MARCOS FILHO, 2005).

Foi observada correlação positiva significativa do comprimento das sementes (C) com a porcentagem e a velocidade de germinação (G, SCG, TCG e IVG). Observou-se, também, correlação de D com PCG e SCG (Tabela 3). Assim, de acordo com as avaliações do presente estudo, sementes maiores apresentaram germinação superior e mais rápida. O genótipo híbrido UENF/Caliman 01 (G4) apresentou maiores médias com relação ao tamanho das sementes, bem como maior germinação e IVG.

Entre as análises de diversidade, os métodos de agrupamento representam técnicas eficientes para avaliar os indivíduos com base em inúmeras características e, assim, proporcionar uma visão holística de cada genótipo, bem como identificar genitores com características interessantes ao melhoramento genético (CRUZ et al., 2011). O agrupamento pelo método UPGMA, com base nas 20 características físico-químicas e fisiológicas das sementes, evidenciou a formação de quatro grupos: o primeiro grupo representado pelos

genótipos G1 (UENF/Caliman 01 geração F₂), G2 (Golden) e G3 (Tainung 01 geração F₂), o segundo pelo G4 (UENF/Caliman 01); o terceiro grupo pelo G8 (JS12 x Waimanalo); e o quarto grupo pelos genótipos G5 (Sunrise Solo), G6 (Golden THB) e G7 (Híbrido Triplo); (Figura 1).

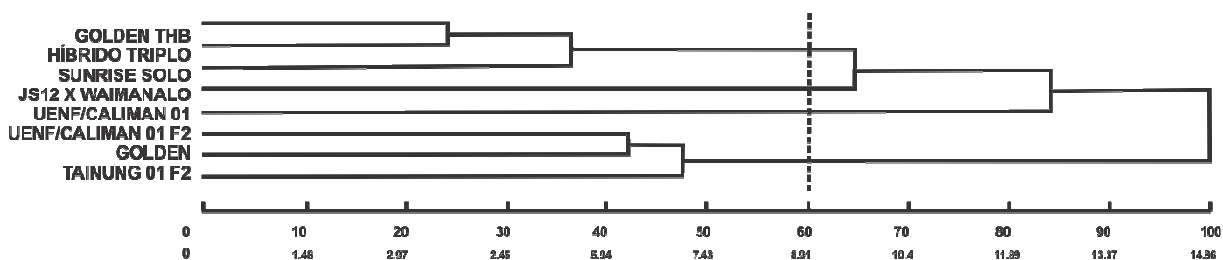


Figura 1. Dendrograma UPGMA para dados físicos, bioquímicos e fisiológicos de sementes de oito genótipos de mamoeiro. Ponto de corte a 60% do nível máximo de fusão (coeficiente de correlação cofenética = 0,6).

A análise de componentes principais possibilita a interpretação de múltiplas variáveis, sendo eficiente na predição da divergência entre os genótipos, permitindo agrupá-los de tal forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre grupos (CRUZ et al., 2011). No presente estudo, foram necessários apenas dois componentes principais para estimar 87,03% da variância total. Com a dispersão gráfica destes, os genótipos foram agrupados de forma semelhante ao agrupamento obtido pelo método UPGMA: G1, G2 e G3 foram reunidos em um mesmo grupo; G6, G7 e G5 e permaneceram reunidos em outro grupo; G4 e G8 permaneceram isolados (Figura 2).

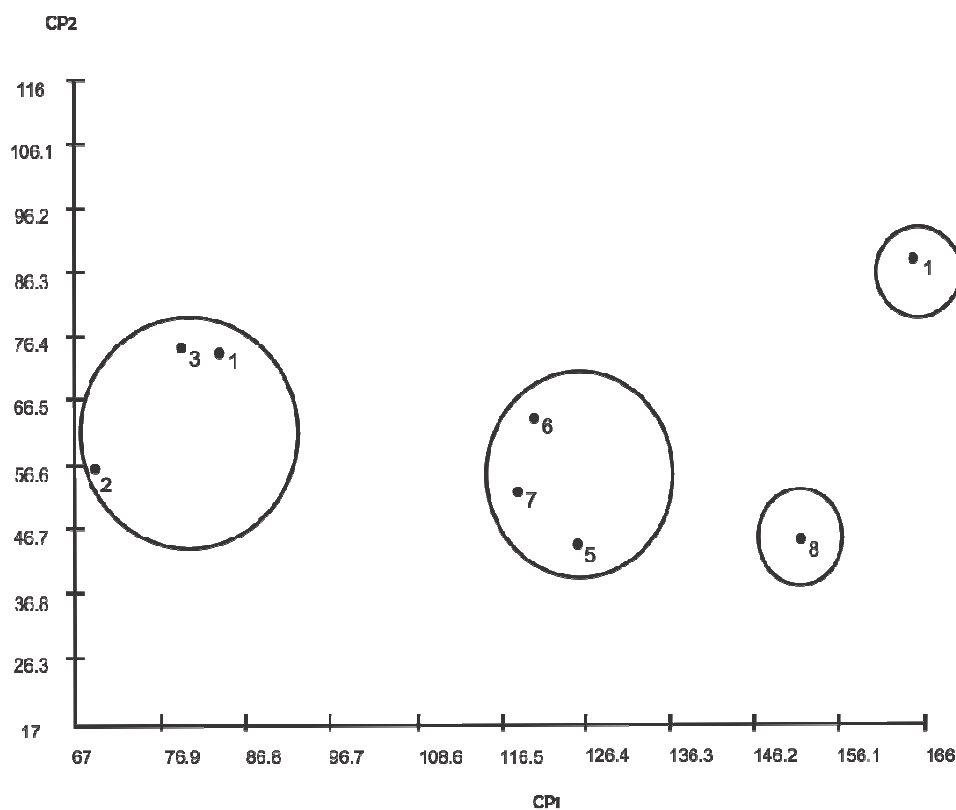


Figura 2. Dispersão gráfica dos dois componentes principais estimados com base nas características germinativas e de desenvolvimento das plântulas de oito genótipos de mamoeiro.

Ao analisar as médias de cada característica para os agrupamentos, observa-se que o híbrido UENF/Caliman 01 (G4) apresentou médias superiores para 50% das características, e que o somatório das médias indica valor muito superior aos demais grupos (Tabela 4). Isto refletiu na separação deste genótipo em um grupo isolado, tanto no agrupamento pelo método de UPGMA (Figura 1), quanto pela análise da dispersão gráfica dos componentes principais (Figura 2).

Tabela 4. Médias de cada característica para os agrupamentos de genótipos de mamoeiro gerados a partir do método de UPGMA e pela análise da dispersão gráfica dos dois Componentes principais. G1 (UENF/Caliman 01 geração F₂), G2 (Golden) e G3 (Tainung 01 geração F₂), G4 (UENF/Caliman 01), G5 (Sunrise Solo), G6 (Golden THB) e G7 (Híbrido Triplo) e G8 (JS12 x Waimanalo)

| Características | G1+G2+G3 | G4 | G5+G6+G7 | G8 |
|------------------------------------|----------|--------|----------|--------|
| Umidade | 7,03 | 7,00 | 5,80 | 5,81 |
| Comprimento | 0,40 | 0,55 | 0,46 | 0,51 |
| Diâmetro | 0,25 | 0,30 | 0,30 | 0,32 |
| Peso de mil sementes | 14,65 | 18,18 | 14,29 | 12,75 |
| Açúcares | 3,25 | 5,13 | 4,21 | 6,38 |
| Amido | 0,46 | 0,58 | 0,42 | 0,62 |
| Lipídios | 9,35 | 11,58 | 11,44 | 4,33 |
| Proteínas | 4,53 | 4,57 | 4,44 | 4,66 |
| Germinação | 75,33 | 94,00 | 74,67 | 96,00 |
| Primeira contagem de germinação | 0,00 | 6,00 | 1,67 | 10,00 |
| Segunda contagem de germinação | 24,33 | 94,00 | 42,33 | 82,00 |
| Terceira contagem de germinação | 73,33 | 94,00 | 72,67 | 96,00 |
| Índice de velocidade de germinação | 1,24 | 2,30 | 1,29 | 1,76 |
| Tempo médio de germinação* | 15,33 | 9,15 | 14,30 | 11,26 |
| Plântulas normais | 82,85 | 98,08 | 81,68 | 83,69 |
| Plântulas anormais* | 17,15 | 1,92 | 15,07 | 16,01 |
| Comprimento da parte aérea | 3,51 | 4,79 | 5,23 | 4,35 |
| Comprimento da raiz | 1,09 | 1,61 | 2,13 | 1,08 |
| Massa fresca | 54,78 | 98,81 | 61,44 | 56,47 |
| Massa seca | 4,36 | 2,49 | 3,71 | 3,08 |
| Somatório (Σ) | 328,26 | 532,90 | 358,81 | 442,24 |

*valores negativos atribuídos ao somatório.

Considerando o somatório, o grupo representado pelo G4 (híbrido UENF/Caliman 01) apresenta desempenho superior aos demais grupos. O grupo formado pelos genótipos G1

(UENF/Caliman 01 F₂), G2 (Golden) e G3 (Tainung 01 F₂) apresenta desempenho 38,4% inferior ao G4; o grupo com os genótipos G5 (Sunrise Solo), G6 (Golden THB) e G7 (Híbrido Triplo) apresenta redução de 32,7% do somatório; e o grupo representado pelo G8 (JS12 x Waimanalo), desempenho 17% inferior ao G4.

Cardoso et al. (2009) observaram que o agrupamento com base na dispersão gráfica das variáveis canônicas foi mais eficiente em discriminar os genótipos que o método de UPGMA, houve uma melhor estimativa da variabilidade genética para a qualidade de sementes de mamão. No presente estudo, tanto pelo método de agrupamento de UPGMA, quanto pela análise de dispersão gráfica de componentes principais, foi possível discriminar o genótipo de maior desempenho inicial com base nas características físico-químicas e fisiológicas de sementes.

Por fim, os genótipos foram ranqueados com base no índice de soma de Ranks (MULAMBA; MOCK, 1978), sendo selecionado o híbrido UENF/Caliman 01(G4). A escolha de genótipos superiores deve ser baseada no seu desempenho agrônômico que, no caso das sementes, pode ser representado pela germinação e pelo vigor. Logo, sementes deste genótipo apresentam maior desempenho inicial.

Com base na técnica de componentes principais é possível avaliar a importância de cada característica sobre a variação total disponível entre os genótipos estudados. As variáveis de maiores pesos nos últimos autovetores são consideradas de menor importância, e vice-versa (CRUZ et al., 2011). Neste estudo, as características de maior peso nos primeiros autovetores foram a segunda (SCG) e terceira contagem de germinação (TCG), e a massa fresca das plântulas (MF).

A SCG também foi, de acordo com o método de Singh (1981), a característica de maior contribuição relativa (33,72%) para a análise de diversidade genética entre os genótipos em estudo (Tabela 5).

Tabela 5. Contribuição relativa das características (cr %) pelo método de Singh (1981) e estimativas das variâncias fenotípica (σ^2_f), genotípica (σ^2_g), e ambiental (σ^2_a), do coeficiente de variação genético (CV_g), do índice de variação (Iv), da herdabilidade (h^2) e correlação intraclasse (CI), para 20 variáveis relacionadas à qualidade física, fisiológica e bioquímica de sementes de oito genótipos de mamoeiro.

| Características | cr % | σ^2_f | σ^2_g | σ^2_a | CV_g | CV_g/CV_e | h^2 | CI |
|------------------------------------|------|--------------|--------------|--------------|--------|-------------|-------|------|
| Umidade | 9,31 | 1,02 | 1,00 | 0,03 | 15,6 | 3,01 | 97,3 | 90,1 |
| Comprimento | 0,03 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 12,8 | 2,54 | 96,3 | 86,6 |
| Diâmetro | 0,06 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 10,1 | 2,03 | 94,3 | 80,5 |
| Peso de mil sementes | 4,28 | 4,26 | 3,80 | 0,45 | 13,2 | 1,45 | 89,3 | 67,7 |
| Açúcares | 2,40 | 1,78 | 1,65 | 0,12 | 30,4 | 1,83 | 93,1 | 77,1 |
| Amido | 0,06 | 0,01 | 0,01 | 0,00 | 16,8 | 1,12 | 83,3 | 55,6 |
| Lipídios | 0,46 | 8,52 | 8,07 | 0,66 | 29,0 | 1,77 | 92,6 | 75,8 |
| Proteínas | 0,03 | 0,01 | 0,00 | 0,01 | - | - | 00,0 | - |
| Germinação | 1,41 | 121 | 109 | 12,3 | 13,0 | 1,49 | 89,8 | 68,8 |
| Primeira contagem de germinação | 0,47 | 15,1 | 12,3 | 2,79 | 133 | 1,05 | 81,5 | 52,5 |
| Segunda contagem de germinação | 33,7 | 972 | 956 | 16,2 | 51,4 | 3,84 | 98,3 | 93,7 |
| Terceira contagem de germinação | 2,11 | 140 | 127 | 12,8 | 14,4 | 1,57 | 90,8 | 71,2 |
| Índice de velocidade de germinação | 0,20 | 0,16 | 0,15 | 0,00 | 26,8 | 3,00 | 97,3 | 90,0 |
| Tempo médio de germinação* | 1,13 | 5,53 | 5,35 | 0,18 | 16,9 | 2,72 | 96,7 | 88,1 |
| Plântulas normais | 0,71 | 68,5 | 61,4 | 7,13 | 9,28 | 1,47 | 89,6 | 68,3 |
| Plântulas anormais* | 30,5 | 68,5 | 61,4 | 7,13 | 50,3 | 1,47 | 89,6 | 68,3 |
| Comprimento da parte aérea | 0,67 | 1,23 | 1,18 | 0,57 | 24,5 | 2,28 | 95,4 | 83,9 |
| Comprimento da raiz | 0,03 | 0,81 | 0,79 | 0,02 | 57,5 | 3,11 | 97,5 | 90,7 |
| Massa fresca | 12,3 | 256 | 240 | 15,6 | 24,6 | 1,97 | 93,9 | 79,4 |
| Massa seca | 0,11 | 0,73 | 0,69 | 0,04 | 22,3 | 2,09 | 94,6 | 81,4 |

As estimativas dos parâmetros genéticos para cada característica avaliada podem ser observadas na Tabela 5. A avaliação do teor de proteínas apresentou falta de ajuste metodológico em relação às estimativas de variâncias fenotípica e ambiental, apresentando

estimativas de variância genética negativa e, portanto, os seus parâmetros genéticos não foram descritos.

A utilização de parâmetros genéticos no melhoramento de plantas permite a identificação da variabilidade genética a fim de maximizar os ganhos de seleção. Isto depende da superioridade das causas genéticas atribuídas ao fenótipo em detrimento das causas ambientais (ou experimentais) (CRUZ et al., 2011). Entre os componentes de variância, observou-se maior participação da variância genotípica (σ^2_g) em relação à ambiental (σ^2_a) em todas as características estudadas (Tabela 5).

O coeficiente de variação genética (CV_g), calculado como a razão entre o desvio padrão genético e a média dos genótipos, foi muito elevado para PCG (133,79), CR (57,49), SCG (51,43) e PA (50,31). O CV_g é um importante indicador da grandeza relativa das mudanças que podem ser obtidas por meio da seleção para cada característica.

A relação CV_g/CV_e , que representa a razão entre as variações decorrentes das causas genéticas e do erro experimental, foi maior do que a unidade para todas as características, destacando-se maiores valores para SCG (3,84%), CR (3,11%), U (3,01%) e IVG (3,00). Isto sugere que, além de ótima precisão experimental, há favorecimento com relação aos possíveis ganhos genéticos durante a seleção com base nestas características.

Características que apresentem altos valores dos coeficientes de variação genética e elevada estimativa de herdabilidade representam a possibilidade de ganhos expressivos no processo de seleção com base na qualidade fisiológica de sementes de mamoeiro (CARDOSO et al., 2009). Em geral, a estimativa de herdabilidade (h^2) apresentou valores elevados ($\geq 81,54\%$) para todas as características avaliadas neste estudo (Tabela 5).

Silva et al. (2008) verificaram que características morfoagronômicas do mamoeiro, como altura de plantas, diâmetro de caule, altura de inserção dos primeiros frutos, número de

flores e frutos, massa, comprimento e diâmetro de frutos, produtividade, e firmeza interna e externa dos frutos, apresentaram estimativas de herdabilidade acima de 80%.

Já com relação às características de qualidade de sementes, Cardoso et al. (2009) observaram altos valores dos coeficientes de correlação genotípica e das estimativas de herdabilidade ($\geq 90\%$) para massa de mil sementes, comprimento de radícula e massa das plântulas. Macedo et al. (2013) verificaram que a maioria das características referente à qualidade das sementes e dos frutos apresenta alto coeficiente de determinação genotípica (H^2). Desta forma, a variabilidade genética relacionada a parâmetros de qualidade fisiológica de sementes pode ser explorada a fim de obter maior desempenho germinativo no melhoramento de cultivares.

A herdabilidade (h^2), juntamente com o coeficiente de determinação genotípico (H^2), determina a quantidade da variação fenotípica que pode ser atribuída a causas genéticas e, assim, a possibilidade de obter mudanças para certa característica por meio da seleção (CRUZ et al., 2011). Desta forma, sugere-se que as análises de diversidade com base na avaliação das características de primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento de raiz, porcentagem de plântulas anormais e, em especial, da segunda contagem de germinação (que também apresentou maior contribuição relativa de Singh) podem levantar informações relevantes à seleção de genótipos de maior desempenho inicial.

CONCLUSÕES

As análises de diversidade e dos parâmetros genéticos com base na avaliação das características físico-químicas e fisiológicas das sementes de mamoeiro indicam que o híbrido UENF/Caliman 01 apresenta maior desempenho.

A análise de diversidade pelos métodos de agrupamento UPGMA e componentes principais foi eficiente na discriminação do genótipo de maior desempenho.

De acordo com as análises da contribuição relativa de Singh, dos Componentes Principais, e dos parâmetros genéticos, a característica segunda contagem de germinação representa a característica de maior importância nas análises de diversidade entre os genótipos de mamoeiro estudados.

REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. Lincoln: AOSA, 2002. 105p. Contribution, 32.

BERBERT, P. A.; CARLESSO, V. A.; SILVA, R. F.; ARAÚJO, E. F.; THIÉBAUT, J. T. L.; OLIVEIRA, M. T. R. Qualidade fisiológica de semente de mamão em função da secagem e do armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 1, p. 40-48, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/DAS/ACS, 2009. 395p.

CARDOSO, D. L.; SILVA, R. F.; PEREIRA, M. G.; VIANA, A. P. Diversidade genética e parâmetros genéticos relacionados à qualidade fisiológica de sementes em germoplasma de mamoeiro. **Revista Ceres**, v. 56, n. 5, p. 572-579, 2009.

CRUZ, C. D. GENES-a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011, 620p.

DIAS, N. L. P.; OLIVEIRA, E. J.; DANTAS, J. L. L. Avaliação de genótipos de mamoeiro com uso de descritores agronômicos e estimação de parâmetros genéticos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 11, p. 1471-1479, 2011.

FERREIRA, J. P.; SCHMILDT, O.; SCHMILDT, E. R.; PIANTAVINHA, W. C.; CATTANEO, L. F. Correlações entre características morfo-agronômicas de acessos de mamoeiro. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 14, p. 246-257, 2012.

MACEDO, C. M. P.; PEREIRA, M. G.; CARDOSO, D. L.; SILVA, R. F. Evaluation of seed physiological quality of papaya elite hybrids, their reciprocal crosses and parents. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 2, p. 190-197, 2013.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MARIN, S. L. D.; PEREIRA, M.G.; AMARAL JR, A.T.; MARTELLETO, L.A.P.; IDE, C.D. Partial diallel to evaluate the combining ability for economically important traits of papaya. **Scientia Agricola**, v. 63, n. 6, p. 540-546, 2006.

MULAMBA, N. N.; MOCK, J. J. Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. **Egyptian Journal of Genetics and Cytology**, v. 7, p. 40-57, 1978.

OLIVEIRA, E. J.; LIMA, D. S.; 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.; DIAS, N. L. P.; DANTAS, J. L. L. Selection of morpho-agronomic descriptors for characterization of papaya cultivars. **Euphytica**, v. 185, p. 253–265, 2012.

POPINIGS, F. **Fisiologia da semente**. 2.ed. Brasília: Ministério da Agricultura, 1985. 289p.

RUGGIERO, C.; MARIN, S. L. D.; DURIGAN, J. F. Mamão, uma história de sucesso. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. Especial, p. 76-82, 2011.

SILVA, F. F.; PEREIRA, M. G.; RAMOS, H. C. C.; DAMASCENO JUNIOR, P. C.; PEREIRA, T. N. S.; IDE, C. D. Genotypic correlations of morpho-agronomic traits in papaya and implications for genetic breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 7, p. 345-352, 2007.

SILVA, F. F.; PEREIRA, M. G.; RAMOS, H. C. C.; DAMASCENO JUNIOR, P. C.; PEREIRA, T. N. S.; GABRIEL, A. P. C.; VIANA, A. P.; FERREGUETTI, G. A. Selection and estimation of the genetic gain in segregating generations of papaya (*Carica papaya* L.). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 8, p. 1-8, 2008.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, v. 36, p. 237-245, 1981.

THE R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING PLATAFORM. **R** - A language and environment for statistical computing. Version 3.1.1 Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2014.

CAPÍTULO III

SALINIDADE, RESTRIÇÃO HÍDRICA E ELEVADA IRRADIÂNCIA DURANTE A GERMINAÇÃO E DESEMPENHO DE GENÓTIPOS DE MAMOEIRO

SALINIDADE, RESTRIÇÃO HÍDRICA E ELEVADA IRRADIÂNCIA DURANTE A GERMINAÇÃO E DESEMPENHO DE GENÓTIPOS DE MAMOEIRO

RESUMO: Objetivou-se caracterizar os estresses induzidos por salinidade, restrição hídrica e irradiância, e avaliar o desempenho germinativo de quatro genótipos de mamoeiro nos diferentes estresses. Inicialmente, as sementes foram submetidas aos potenciais osmóticos de zero; -0,2; -0,4; -0,6 e -0,8 MPa, induzidos por NaCl e manitol, e a diferentes níveis de irradiância (60, 130, 580 e 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) durante a germinação. Observou-se que a salinidade e a restrição hídrica em potenciais osmóticos inferiores a -0,4 MPa, e a irradiância de 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (sol pleno) conferem condições de estresse durante a germinação de sementes de mamão. Em seguida, quatro genótipos de mamoeiro foram avaliados quanto ao desempenho sob estes estresses. Para a indução do estresse salino e de restrição hídrica foram utilizados -0,6 MPa de NaCl e de manitol, respectivamente, e para o estresse por elevada irradiância, o sol pleno (1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Verificou-se que os híbridos UENF/Caliman 01 e JS12 x Waimanalo apresentam maior potencial de germinação. O híbrido UENF/Caliman 01 apresenta maior desempenho germinativo nas condições de estresses salino e hídrico, enquanto o híbrido JS12 x Waimanalo apresenta maior desempenho sob elevada irradiância.

Palavras-chave: *Carica papaya*, estresse hídrico, estresse salino, irradiância, vigor de sementes.

ABSTRACT: The objective of this study was to characterize the stresses induced by salinity, water restriction and irradiance, and evaluate germination performance of four papaya genotypes in different stresses. Initially, the seeds were subjected to osmotic potentials of zero; -0.2; -0.4; -0.6 and -0.8 MPa, induced by NaCl and mannitol, and different irradiation

levels (60, 130, 580 and 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) during germination. It was observed that the salinity and the water restriction on osmotic potentials below -0.4 MPa, and the irradiance of 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (full sun) confer stress conditions during germination of papaya seeds. Then, the performance of four papaya genotypes was evaluated under these stresses. To induce stress by salinity and water restriction, was used 0.6 MPa of NaCl and mannitol, respectively. To induce stress by high irradiance was used the full sun (1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). It was observed that UENF/JS12 Caliman 01 and JS12 x Waimanalo hybrids have higher germination. The hybrid UENF/01 Caliman has higher germination performance under salinity and water stress, while the hybrid JS12 x Waimanalo offers greater performance under high irradiance.

Keywords: *Carica papaya*, water stress, salt stress, irradiance, seed vigor.

INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L., Caricaceae) é uma frutífera, herbácea de grande porte, de origem tropical, propagada, principalmente, por meio de sementes. A espécie apresenta respostas fisiológicas fortemente ligadas às condições ambientais (CAMPOSTRINI; GLENN, 2007; TEIXEIRA DA SILVA et al., 2007).

O crescimento e o desenvolvimento de um genótipo são resultado de sua interação com o ambiente (TAIZ; ZEIGER, 2009). Logo, a produção de mudas depende da identificação das condições ambientais ideais para a germinação e o estabelecimento das plântulas, bem como a resposta diferenciada de genótipos frente às condições de estresse durante a germinação, o que pode ser avaliado por meio de testes de vigor de sementes. A caracterização do vigor é eficiente na avaliação da qualidade de sementes e na identificação de genótipos de maior desempenho sob condições ambientais adversas (MARCOS FILHO, 2005).

O estudo das respostas do mamoeiro aos estresses ambientais objetiva minimizar os efeitos indesejados destes sobre os processos fisiológicos, viabilizando novas estratégias de manejo a fim de promover maior produtividade. Há uma variação genética das respostas fisiológicas de plantas de mamoeiro em relação às condições de temperatura, irradiância, restrição hídrica e salinidade (CAMPOSTRINI; GLENN, 2007; FONTES et al., 2008; CAVALCANTE et al., 2010; MENGARDA et al., 2014), as quais podem atuar, também, sobre as fases iniciais do seu desenvolvimento.

Além disso, sabe-se que diferentes genótipos de mamoeiro apresentam elevada divergência genética para atributos relacionados à qualidade fisiológica de semente (CARDOSO et al., 2009; MACEDO et al., 2013). No entanto, as respostas de genótipos de mamoeiro às condições de estresses durante a germinação não são investigadas.

Objetivou-se, com este trabalho, caracterizar os estresses induzidos por salinidade, restrição hídrica e irradiância na germinação, e avaliar o desempenho germinativo de genótipos de mamoeiro a partir de testes de vigor nos diferentes estresses.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) e em telado de sombrite, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), localizado sob coordenadas 20°36'13" S e 41°11'05" W, a 271 m de altitude, com clima tipo Cwa (inverno seco e verão chuvoso, com precipitação média anual de 1200 mm), entre os meses de setembro e outubro de 2011.

Foram utilizadas sementes de quatro genótipos de mamoeiro: híbrido UENF/Caliman 01 (G1); cv. Golden THB (G2); Híbrido Triplo (G3) e híbrido JS12 x Waimanalo (G4), fornecidas pela empresa Caliman Agrícola S/A.

Caracterização dos estresses induzidos por salinidade, restrição hídrica e irradiância durante a germinação: em laboratório, sementes de mamão dos quatro genótipos foram submetidas a diferentes níveis de potenciais osmóticos durante a germinação: zero; -0,2; -0,4; -0,6 e -0,8 MPa, induzidos por solução de cloreto de sódio (NaCl) e por solução de manitol (Vetec®). O cálculo do potencial osmótico foi obtido de acordo com a equação $\Psi_s = -RTC_i$ (SALISBURY; ROSS, 1991). A semeadura foi feita em rolos de papel tipo germitest umedecido com as soluções no volume de 2,5 vezes a massa do papel seco, acondicionados em câmara de germinação, com alternância de temperatura (20-30 °C).

Em telado sombrite, as sementes de mamoeiro foram submetidas a diferentes níveis de irradiância durante a emergência: 1200 (sol pleno), 580, 130 e 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O fator irradiância foi obtido com sobreposição de telas sombrite de cor preta (poliolefina), e a irradiância determinada por radiômetro (Light meter LI -250A, LI-COR, USA). A semeadura foi feita em tubetes plásticos com capacidade para 50 cm^3 contendo substrato comercial (HS hortaliças, Holambra substratos®) a 1,5 cm de profundidade. Foram realizadas irrigações conforme a necessidade.

Foram avaliados: porcentagem de germinação (G), considerando o número de plântulas com protrusão de raiz primária (germinação *stricto sensu*), ou cujos cotilédones encontravam-se acima do substrato em telados de sombrite (emergência). Em laboratório a estabilização ocorreu após 28 dias e, em casa de vegetação, após 35 dias da semeadura; primeira e segunda e terceira contagem de germinação (PCG, SCG e TCG), sendo que, em laboratório, avaliou-se a porcentagem de plântulas com protrusão da raiz primária (germinação *strico sensu*) após sete, 14 e 21 dias da semeadura, respectivamente. Em telados de sombrite, avaliou-se a porcentagem de plântulas emersas após 14, 21 e 28 dias da semeadura, respectivamente; índice de velocidade de germinação (IVG) – foi calculado de acordo com Maguire (1962), a partir da contagem diária do número de sementes que apresentaram protrusão da raiz primária

ou emergência; tempo médio de germinação (TMG) – calculado de acordo com Labouriau (1983).

Delineamento experimental e análise estatística: para o fim de caracterização, utilizou-se a média dos quatro genótipos. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições de 25 sementes por tratamento. A análise dos dados foi realizada de forma independente para cada condição de estresse, sendo realizada análise de regressão e adotados os modelos de regressão com significância ($p \leq 5\%$) e maior ordem (R^2), utilizando o programa estatístico R (THE R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING, 2014).

Desempenho germinativo de genótipos de mamoeiro sob estresses: para a caracterização do potencial fisiológico dos quatro genótipos em laboratório, as sementes foram submetidas ao teste de germinação para a caracterização fisiológica, utilizando-se quatro repetições de 25 sementes distribuídas em rolos de papel umedecidos com água destilada na proporção equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco, e mantidas em câmara de germinação, com alternância de temperatura (20-30 °C). Foram avaliados G, PCG, SCG, e IVG, conforme descrito anteriormente.

Com o objetivo de avaliar o desempenho dos quatro genótipos sob diferentes estresses, as sementes foram submetidas aos seguintes testes de vigor: *Salinidade e restrição hídrica* - sendo que, para a indução do estresse salino foi utilizada solução de NaCl e, para a restrição hídrica, solução de manitol, ambas no potencial osmótico de -0,6 MPa. As sementes foram distribuídas em rolos de papel, umedecidos com água destilada (controle) ou soluções de NaCl e manitol na proporção equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco, e mantidas em câmara de germinação, com alternância de temperatura (20-30 °C). Foram avaliados G, PCG, SCG, e IVG, conforme descrito anteriormente. *Elevada irradiância* - as sementes foram submetidas às condições de irradiância intermediária (controle) = $580 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e de

estresse por elevada irradiância = $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (sol pleno). Foi realizada a semeadura em tubetes plásticos com capacidade para 50 cm^3 contendo substrato comercial (HS hortaliças, Holambra substratos[®]), a 1,5 cm de profundidade, e mantidas sob temperatura e umidade ambiente. Realizou-se irrigação conforme a necessidade. Foram avaliados G, PCG, SCG, e IVG, conforme descrito anteriormente.

Delineamento experimental e análise estatística: o experimento foi conduzido em um DIC, com quatro repetições de 25 sementes por tratamento. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey em nível de 1% de probabilidade, utilizando o programa estatístico R (THE R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING, 2014).

Para a identificação do genótipo de maior desempenho em cada estresse, foi calculado o seu desempenho relativo, representado pelo aumento ou pela redução em relação ao controle, considerando o controle como valor absoluto (100%). Foram estimados os componentes principais e realizada análise da dispersão gráfica na formação de grupos, utilizando o programa estatístico Genes (CRUZ, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização dos estresses induzidos por salinidade, restrição hídrica e irradiância durante a germinação

Sob estresses salino e hídrico, à medida que o potencial osmótico foi reduzido houve redução da germinação e do vigor das sementes de mamão. A resposta foi ajustada ao modelo linear de regressão para todas as características avaliadas (Figura 1).

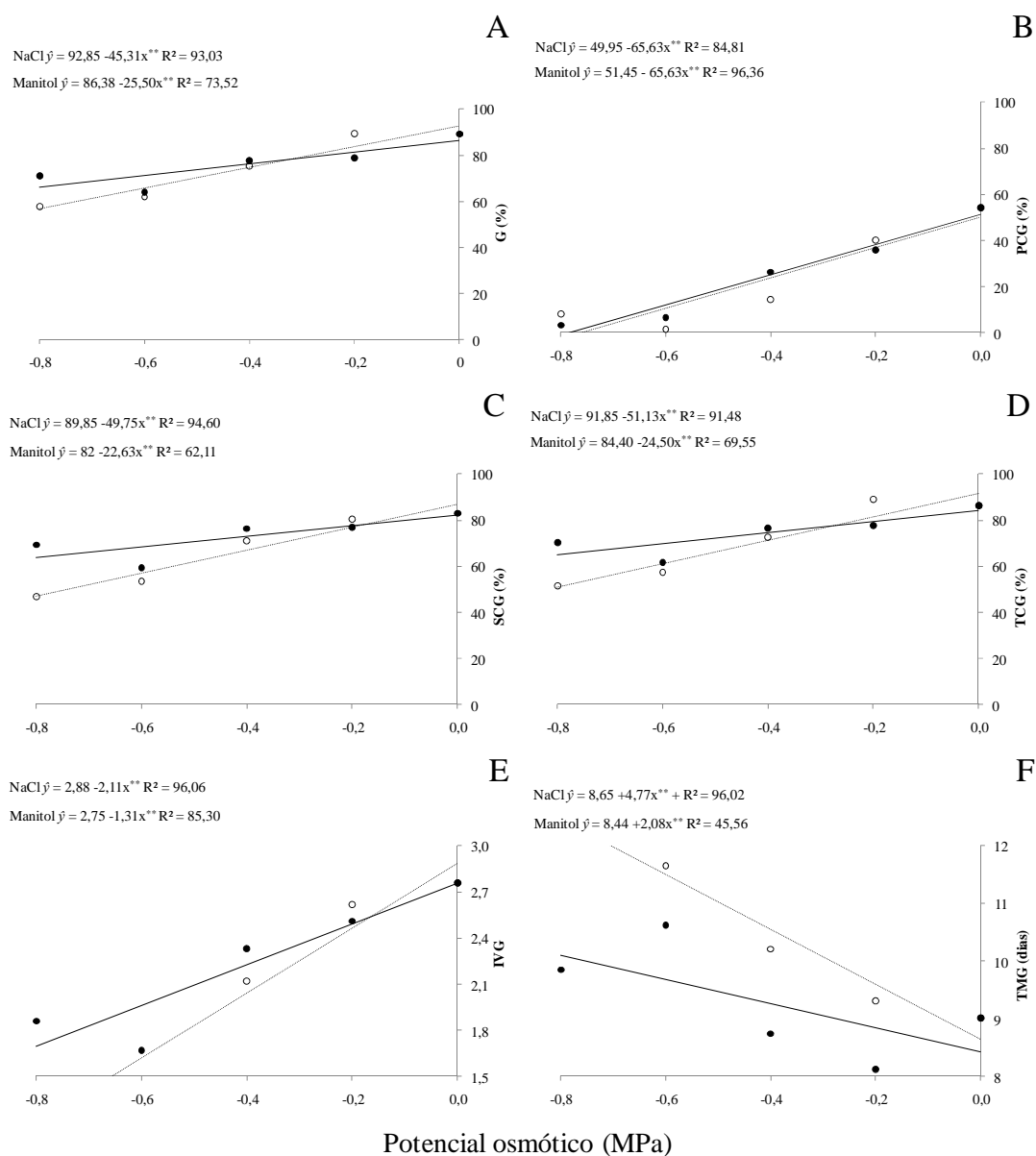


Figura 1. Qualidade fisiológica de sementes de mamão (*C. papaya*) submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por NaCl (salinidade) e por manitol (restrição hídrica): A - porcentagem de germinação (G); B - primeira contagem de germinação (PCG); C - segunda contagem de germinação (SCG); D - terceira contagem de germinação (TCG), em porcentagem; E - índice de velocidade de germinação (IVG); F - tempo médio de germinação (TMG), em dias. Legenda: ○ e linha pontilhada – NaCl; ● e linha contínua – Manitol. ** - significativo em nível de 1% de probabilidade.

Observou-se redução expressiva de G, SCG e TCG no potencial de -0,6 MPa de NaCl e de manitol (Figura 1A, C e D). Houve atraso da germinação em potenciais osmóticos menos negativos, uma vez que foi observada a redução da PCG em -0,2 MPa de NaCl e de manitol, e o aumento do TMG em -0,2 MPa de NaCl (Figura 1B e F). Ainda, observou-se redução do IVG em -0,2 MPa de NaCl, e em -0,4 MPa de manitol (Figura 1E).

Em geral, o NaCl proporcionou reduções mais acentuadas em potenciais osmóticos menos reduzidos que o manitol (Figura 1A, C, D, E e F). Assim, as sementes de mamão apresentaram maior sensibilidade ao estresse salino com relação ao estresse por restrição hídrica durante a germinação.

As respostas observadas durante a germinação de sementes de mamão evidenciaram que a salinidade induzida por NaCl, e a restrição hídrica induzida por manitol, conferem condições de estresse durante a germinação de sementes de mamão. As sementes apresentam-se mais sensíveis ao estresse salino do que à restrição hídrica, e o processo é mais prejudicado com relação à velocidade em detrimento da porcentagem total de germinação.

A germinação de sementes é um processo complexo e dependente de diversos fatores externos, como temperatura, água, salinidade, composição de gases e luz (MARCOS FILHO, 2005). A redução do potencial osmótico causado por estresse hídrico ou salino reduz o gradiente de absorção de água pela semente, interferindo nas atividades respiratórias e metabólicas que liberam energia e nutrientes para sustentar o crescimento do embrião (TAIZ; ZEIGER, 2009). Logo, os estresses osmóticos diminuem a velocidade e a porcentagem de germinação (MURILLO-AMADOR et al., 2002; PATANE et al., 2013).

Em resposta ao estresse osmótico, as células do embrião e do endosperma das sementes podem acumular solutos, como açúcares e proteínas, os quais representam uma estratégia adaptativa para evitar a germinação em ambientes estressantes (VARDHINI; RAO 2003;

KOSOVÁA et al., 2011; QUEIROZ et al., 2011), refletindo no atraso e na redução da porcentagem de germinação.

Observou-se, neste trabalho, que os estresses osmóticos interferiram de forma mais expressiva na velocidade de germinação (TMG e PCG) do que a porcentagem total de germinação (G) de sementes de mamão. No estresse salino, enquanto a redução na PCG e no TMG foi observada em -0,2 MPa, para G, observou-se redução em -0,6 MPa.

O efeito do estresse hídrico na viabilidade das sementes e no vigor das plântulas de cultivares de algodão foi severo a partir de -0,4 MPa (MENESES et al., 2011). Em cultivares de sorgo a porcentagem de germinação das sementes também foi reduzida por estresse hídrico (induzido por polietilenoglicol) em potencial inferior a -0,6 MPa; no entanto, houve atraso da germinação em -0,4 MPa (PATANE et al., 2013), concordando com os resultados observados no presente estudo.

Em cultivares de feijão-caupi a germinação e a emergência também apresentaram atraso quando as sementes foram submetidas a condição de salinidade (NaCl) e restrição hídrica (polietilenoglicol), sendo que cada cultivar respondeu de forma diferenciada (MURILLO-AMADOR et al., 2002). No entanto, diferente do observado no presente estudo com mamão, em sorgo e em feijão-caupi o efeito do estresse salino (induzido por NaCl) foi menos prejudicial que a restrição hídrica.

Somado aos prejuízos da redução do potencial hídrico, a salinidade causa toxidez ao vegetal devido à dissociação de íons que atravessam facilmente a membrana e alteram o metabolismo celular. Assim, o NaCl apresenta um efeito duplo: toxidez, decorrente da liberação de íons Na^+ e Cl^- , e restrição hídrica, pelo efeito osmótico dos solutos diluídos na solução, que restringem a absorção de água pela semente durante a embebição (MARCOS FILHO, 2005; TAIZ; ZEIGER, 2009; KOSOVÁA et al., 2011). Neste estudo, observou-se

que o estresse salino foi mais prejudicial na germinação de sementes de mamão do que a restrição hídrica, o que pode ser decorrente da toxidez.

Durante o desenvolvimento em campo, o mamoeiro é considerado uma espécie moderadamente tolerante à salinidade e à restrição hídrica. As plantas são mais sensíveis ao efeito dos sais na fase de crescimento do que na emergência: enquanto na emergência toleram entre 4 e 6 dS m⁻³ (o que corresponde, aproximadamente, ao potencial osmótico entre -0,2 e -0,3 MPa induzido por NaCl), o crescimento das plantas é prejudicado sob salinidade 10 vezes menor (0,4 dS m⁻³) (CAVALCANTE et al., 2010). Com relação ao potencial hídrico, recomenda-se utilizar pelo menos 50% da capacidade de campo no cultivo de mamoeiro a fim de evitar prejuízos ao crescimento e à produtividade (FONTES et al., 2008). No presente estudo, observou-se que a salinidade e a restrição hídrica em potenciais osmóticos inferiores a -0,4 MPa conferem condições de estresse durante a germinação de sementes de mamão.

Sob diferentes irradiâncias, observaram-se maiores médias de porcentagem e velocidade de germinação em irradiâncias baixas e intermediária (60, 130 e 580 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) quando comparadas às médias observadas em elevada irradiância (1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Figura 2).

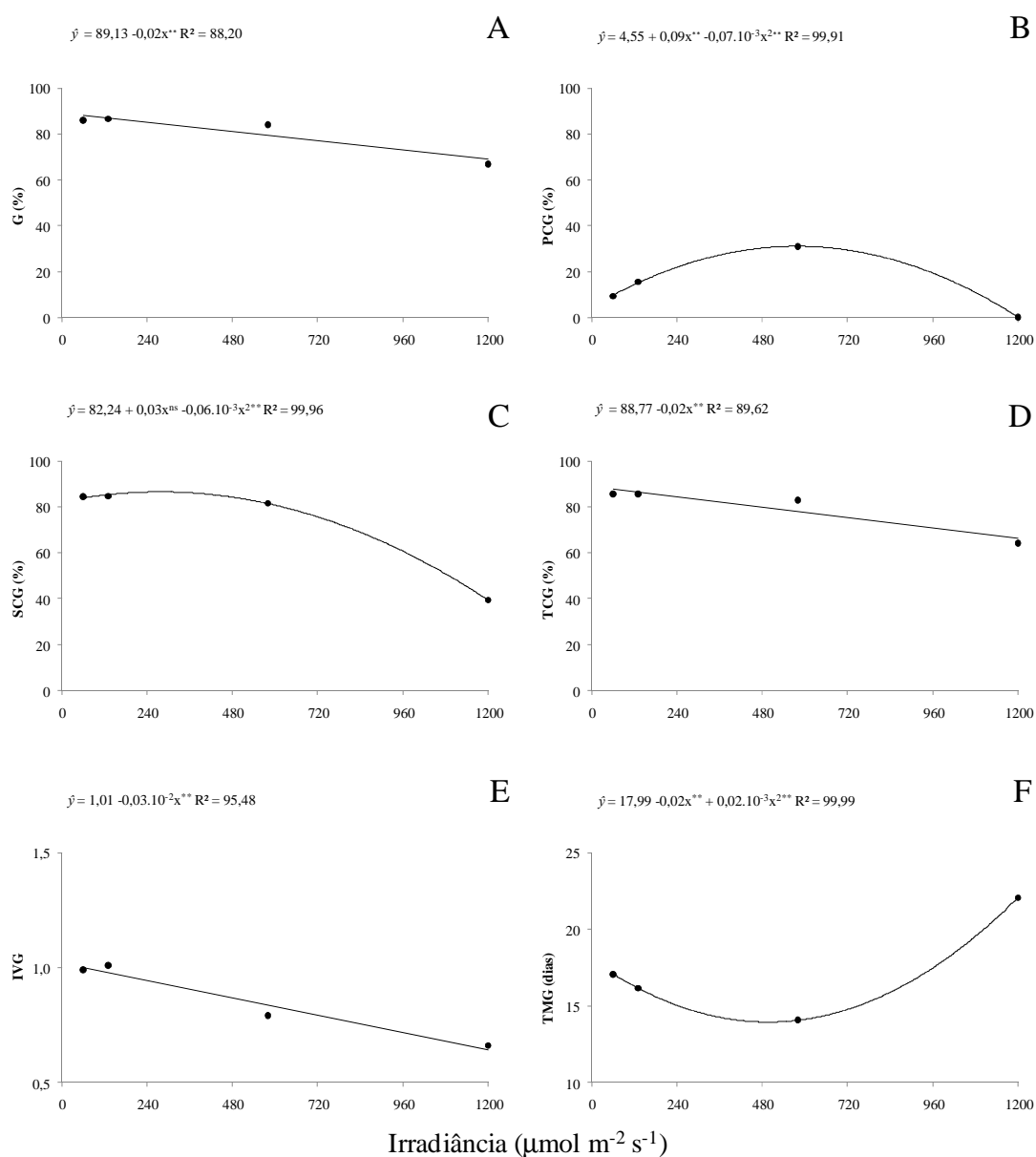


Figura 2. Qualidade fisiológica de sementes de mamão submetidas a diferentes níveis de irradiância: A - porcentagem de germinação (G); B – primeira contagem de germinação (PCG); C - segunda contagem de germinação (SCG); D – terceira contagem de germinação (TCG), expressas em porcentagem; E - índice de velocidade de germinação (IVG); F - tempo médio de germinação (TMG), em dias. ** - significativo em nível de 5% de probabilidade; ^{ns} – não significativo.

Observou-se redução linear de G, TCG e IVG com o aumento da irradiância (Figura 2A, D e E). Com relação à PCG, observou-se resposta ajustada ao modelo quadrático de regressão: na condição de baixa irradiância (60 e 130 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a porcentagem de germinação na primeira contagem foi baixa ($\leq 16\%$), com ponto de máximo estimado em irradiância de 655 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (33%), e atingindo média próxima de zero sob sol pleno (1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Figura 2B).

Para SCG também houve resposta ajustada ao modelo quadrático de regressão, com ponto de máximo em irradiância de 278,18 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (86%) (Figura 2C). Para TMG o ponto de mínimo estimado foi em irradiância de 509,38 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (13 dias) (Figura 2D). Observou-se, desta forma, que a germinação de sementes de mamão é prejudicada, especialmente, pela elevada irradiância.

Com relação ao estresse por elevada irradiância, os resultados sugerem que o sol pleno (1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) representa uma condição de estresse, enquanto o sombreamento com uma tela (580 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de irradiância) proporciona condições de luminosidade mais adequadas para a germinação e o vigor das sementes de mamão. A irradiância intermediária (uma ou duas telas de sombrite) é adequada ao desenvolvimento das mudas até os 120 dias após a semeadura (MENGARDA et al., 2014).

Na fase adulta o mamoeiro é considerado uma planta de sol pleno (CAMPOSTRINI et al., 2001). No entanto, o estresse por elevada irradiância pode causar danos oxidativos e formação de espécies reativas de oxigênio. Alterações na luminosidade estão associadas a variações na temperatura, na disponibilidade hídrica e nas trocas gasosas. Estes fatores afetam profundamente a fotossíntese e, conseqüentemente, o crescimento e desenvolvimento das plantas de mamoeiro (CAMPOSTRINI; GLENN, 2007).

No presente trabalho investigou a ação dos estresses durante a germinação, quando o crescimento das plântulas é dependente das reservas das sementes e não da produção de

fotossimilados. E, embora, a espécie seja considerada uma planta de sol pleno, observou-se que a elevada irradiância (e os fatores a ela associados) afetou negativamente a germinação de sementes de mamão. Isso confirma as informações de que, para a formação de mudas de mamoeiro, é necessário o uso de ambiente protegido com sombreamento (MENGARDA et al., 2014).

Desempenho germinativo de genótipos de mamoeiro sob estresses

Na ausência de estresse, os híbridos UENF/Caliman 01 e JS12 x Waimanalo apresentaram maiores médias de G e IVG (Tabela 1), sugerindo maior potencial de germinação para estes genótipos.

Tabela 1. Porcentagem de germinação (G), primeira (PCG) e segunda (SCG) contagem de germinação, expressos em porcentagem (%) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de genótipos de mamoeiro na caracterização fisiológica e sob estresse por salinidade, restrição hídrica e elevada irradiância

| Genótipos | Caracterização fisiológica | | | |
|------------------|----------------------------|---------|---------|---------|
| | G (%) ¹ | PCG (%) | SCG (%) | IVG |
| UENF/Caliman 01 | 94 a ¹ | 6 | 94 | 2,30 a |
| Golden THB | 72 b | 0 | 32 | 1,20 c |
| Híbrido Triplo | 72 b | 0 | 33 | 1,27 c |
| JS12 x Waimanalo | 96 a | 10 | 82 | 1,76 b |
| F _{cal} | 15,51** | - | - | 66,76** |
| CV (%) | 9,07 | - | - | 2,90 |
| Genótipos | Salinidade | | | |
| | G (%) | PCG (%) | SCG (%) | IVG |
| UENF/Caliman 01 | 87 a | 6 | 94 a | 2,15 |
| Golden THB | 69 a | 0 | 62 b | 1,62 |
| Híbrido Triplo | 10 b | 0 | 04 c | 0,21 |
| JS12 x Waimanalo | 82 a | 2 | 65 ab | 1,88 |
| F _{cal} | 48,44** | - | 68,13** | - |
| CV (%) | 13,05 | - | 13,07 | - |
| Genótipos | Restrição hídrica | | | |
| | G (%) | PCG (%) | SCG (%) | IVG |
| UENF/Caliman 01 | 92 a | 12 | 92 a | 2,67 a |
| Golden THB | 52 c | 4 | 49 c | 1,36 c |
| Híbrido Triplo | 34 c | 0 | 26 d | 0,72 d |
| JS12 x Waimanalo | 78 b | 10 | 70 b | 1,97 b |
| F _{cal} | 42,86** | - | 59,66** | 58,87** |
| CV (%) | 9,50 | - | 9,37 | 5,22 |
| Genótipos | Elevada irradiância | | | |
| | G (%) | PCG (%) | SCG (%) | IVG |
| UENF/Caliman 01 | 73 ab | 0 | 23 bc | 0,67 b |
| Golden THB | 46 b | 0 | 4 c | 0,42 c |
| Híbrido Triplo | 60 b | 0 | 54 ab | 0,63 b |
| JS12 x Waimanalo | 89 a | 1 | 78 a | 0,94 a |
| F _{cal} | 8,44** | - | 11,98** | 31,50** |
| CV (%) | 15,63 | - | 40,68 | 3,30 |

¹Médias seguidas de letras iguais (colunas) são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey em nível de 1% de probabilidade (**) (n=4). F_{cal} = valor de F calculado obtido pela análise de variância. CV (%) = coeficiente de variação. - = dados não apresentam normalidade e, portanto, não foi possível realizar a análise de variância.

A análise do IVG infere sobre a capacidade da semente em germinar mais rapidamente e, quanto maior o IVG, menor a chance das sementes e plântulas sofrerem com estresses

bióticos e abióticos, e maior a possibilidade de formação de um estande ideal de plantas. É um índice de vigor que prediz, também, a alteração de eventos metabólicos e a eficiência na síntese de compostos essenciais à germinação (MARCOS FILHO, 2005). Assim, a avaliação conjunta de G e IVG traduz-se em elevada qualidade fisiológica de sementes de mamão.

O maior potencial de germinação identificado pelo teste de germinação em condições ideais para os híbridos UENF/Caliman 01 e JS12 x Waimanalo teve relação com as respostas dos testes de vigor, sendo que estes genótipos mantiveram maior germinação e vigor de sementes quando submetidos aos diferentes estresses (Tabela 1). Com a avaliação do desempenho relativo foi possível diferenciar, de forma mais clara, os genótipos com relação à tolerância a cada situação de estresse durante a germinação (Tabela 2).

Tabela 2. Desempenho relativo (%) dos genótipos de mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01, cv. Golden THB, Híbrido Triplo e híbrido JS12 x Waimanalo durante a germinação sob estresses por salinidade, restrição hídrica e elevada irradiância

| Genótipos | G | PCG | SCG | IVG |
|---------------------|------------|------|------|-----|
| | Salinidade | | | |
| UENF/Caliman 01 | -02 | -95 | -07 | -30 |
| Golden THB | -17 | -100 | -11 | -35 |
| Híbrido Triplo | -89 | -100 | -95 | -91 |
| JS12 x Waimanalo | -15 | -97 | -31 | -43 |
| Restrição hídrica | | | | |
| UENF/Caliman 01 | +03 | -85 | +03 | -13 |
| Golden THB | -37 | -92 | -30 | -45 |
| Híbrido Triplo | -62 | -100 | -67 | -68 |
| JS12 x Waimanalo | -19 | -86 | -26 | -40 |
| Elevada irradiância | | | | |
| UENF/Caliman 01 | -28 | -77 | -100 | -42 |
| Golden THB | -42 | -95 | -100 | -54 |
| Híbrido Triplo | -23 | -31 | -100 | -45 |
| JS12 x Waimanalo | 00 | -13 | -67 | -10 |

(+) Aumento e (-) redução relativa, tomando como referencial o valor absoluto do controle (100%). Porcentagem de germinação (G), primeira (PCG), segunda (SCG) contagem de germinação, e índice de velocidade de germinação (IVG).

Sob salinidade, o Híbrido Triplo apresentou menor desempenho, com redução de 89% da G. Já o híbrido UENF/Caliman 01 apresentou a menor redução da G (-2%) e maior desempenho sob estresse salino (Tabela 2).

O Híbrido Triplo também apresentou menor desempenho quando as sementes foram submetidas ao estresse por restrição hídrica (-62% de germinação) (Tabela 2). O híbrido UENF/Caliman 01 destaca-se com maiores médias de G, SCG e IVG (Tabela 1). Este genótipo apresentou menor redução das médias para as características fisiológicas em estresse hídrico, apresentando maior vigor neste estresse (Tabela 2).

Considerando a G, os genótipos avaliados neste estudo (a exceção do híbrido UENF/Caliman 01) apresentaram grande redução do desempenho relativo quando submetidos ao estresse salino induzido por NaCl ($\geq 15\%$), e quando submetidos ao estresse por restrição hídrica induzido por manitol ($\geq 19\%$) (Tabela 2). O mamoeiro é considerado moderadamente tolerante à salinidade. No entanto, acima dos níveis de tolerância, a salinidade causa inibição do crescimento em altura, diâmetro do caule, da área foliar, e do acúmulo de biomassa das plantas. Na cv. Sunrise Solo, o incremento da salinidade da água de irrigação inibiu a germinação e o crescimento vegetativo (CAVALCANTE et al., 2010).

O híbrido UENF/Caliman 01 apresentou maior desempenho sob os estresses osmóticos. Investigando as respostas de mamoeiro ao estresse hídrico, verificou-se que algumas variedades de mamoeiro apresentam ajustamento osmótico como fator que contribui para a adaptação à seca (CAMPOSTRINI et al., 2001; CAMPOSTRINI; GLENN, 2007), fato este que pode ter contribuído para o híbrido UENF/Caliman 01 apresentar maior tolerância aos estresses por elevada salinidade e restrição hídrica durante a germinação.

Em estudo dos efeitos iônicos da salinidade em soja, verificou-se que a capacidade de restrição ao Cl^- em tecidos acima do solo, como as folhas, pode representar um importante fator na tolerância a salinidade (ZHANG et al., 2011). Também em soja, a salinidade diminui

a porcentagem de pectina e aumenta a de celulose na parede celular de células das raízes, sugerindo que a salinidade aumenta a rigidez da parede celular e, deste modo, inibe o crescimento da raiz. Foi observado que cultivares capazes de manter sua constituição de parede celular, apresentam uma vantagem aparente com relação à tolerância ao estresse salino. Assim, parece haver relação entre os polissacarídeos constituintes de parede celular com a tolerância de soja à salinidade (AN et al., 2014). Logo, características relacionadas à parede celular, e sua funcionalidade com relação ao transporte de íons, podem representar uma função importante na tolerância ao estresse.

Tais características apresentam especificidade com relação aos genótipos. As diferenças genéticas observadas entre as cultivares no desempenho germinativo sob estresse salino e hídrico podem ser usadas para compreender as respostas fisiológicas quanto à tolerância a estresses (MURILLO-AMADOR et al., 2002), bem como o melhoramento das espécies cultivadas.

Diferenças genéticas na tolerância a estresses abióticos foram relatadas em sorgo, gerando informações que podem auxiliar na identificação de genótipos adaptados a regiões semiáridas que, comumente, apresentam solos salinos e/ou com restrição hídrica (YU et al., 2004; PATANE et al., 2013). O estudo do crescimento, da alocação de biomassa e das alterações bioquímicas em cana-de-açúcar sob condições de estresse hídrico, com base em análises uni e multivariada, permitiu inferir sobre a maior tolerância em relação às condições de seca entre as cultivares (QUEIROZ et al., 2011). Ainda, o estudo das respostas germinativas (germinação e vigor) ao estresse hídrico (polietilenoglicol) permitiu diferenciar cultivares de algodão com relação a sensibilidade aos potenciais osmóticos testados (MENESES et al., 2011).

Quando submetidas à condição de elevada irradiância, as sementes dos híbridos UENF/Caliman 01 e JS12 x Waimanlo apresentaram maior vigor, sendo que JS12 x

Waimanlo apresentou maior desempenho relativo: não houve redução da G, e observou-se redução de 10% para o IVG. Já o cv. Golden THB apresentou menor desempenho: redução de 42% na germinação e de 54% no IVG (Tabelas 1 e 2). Assim, observou-se que a elevada irradiância foi mais prejudicial à germinação de sementes de mamão da cv. Golden THB.

Respostas genótipo-específicas a estresses também foram observadas em mamoeiro. Há uma variação genética da resposta do mamoeiro em relação às condições de luminosidade durante seu desenvolvimento inicial e sua fase vegetativa e reprodutiva (CAMPOSTRINI; GLENN, 2007; MENGARDA et al., 2014).

O mamoeiro apresenta elevada divergência genética para atributos relacionados à qualidade fisiológica de sementes, que podem ser utilizados na seleção de genótipos com base em características germinativas (CARDOSO et al., 2009; MACEDO et al., 2013). Neste trabalho, com base na avaliação da qualidade fisiológica das sementes, foi observada uma resposta genótipo-específica quanto às características fisiológicas das sementes para cada condição de estresse.

A partir do agrupamento com base na análise de dispersão gráfica dos componentes principais verificou-se que os híbridos UENF/Caliman 01 (1) e JS12 x Waimanlo (4), que apresentaram maior qualidade fisiológica inicial das sementes, formaram um grupo separado da cv. Golden THB (2) e do Híbrido Triplo (3), ocupando posição distante da origem no eixo das abscissas (correspondente ao CP1) (Figura 3A).

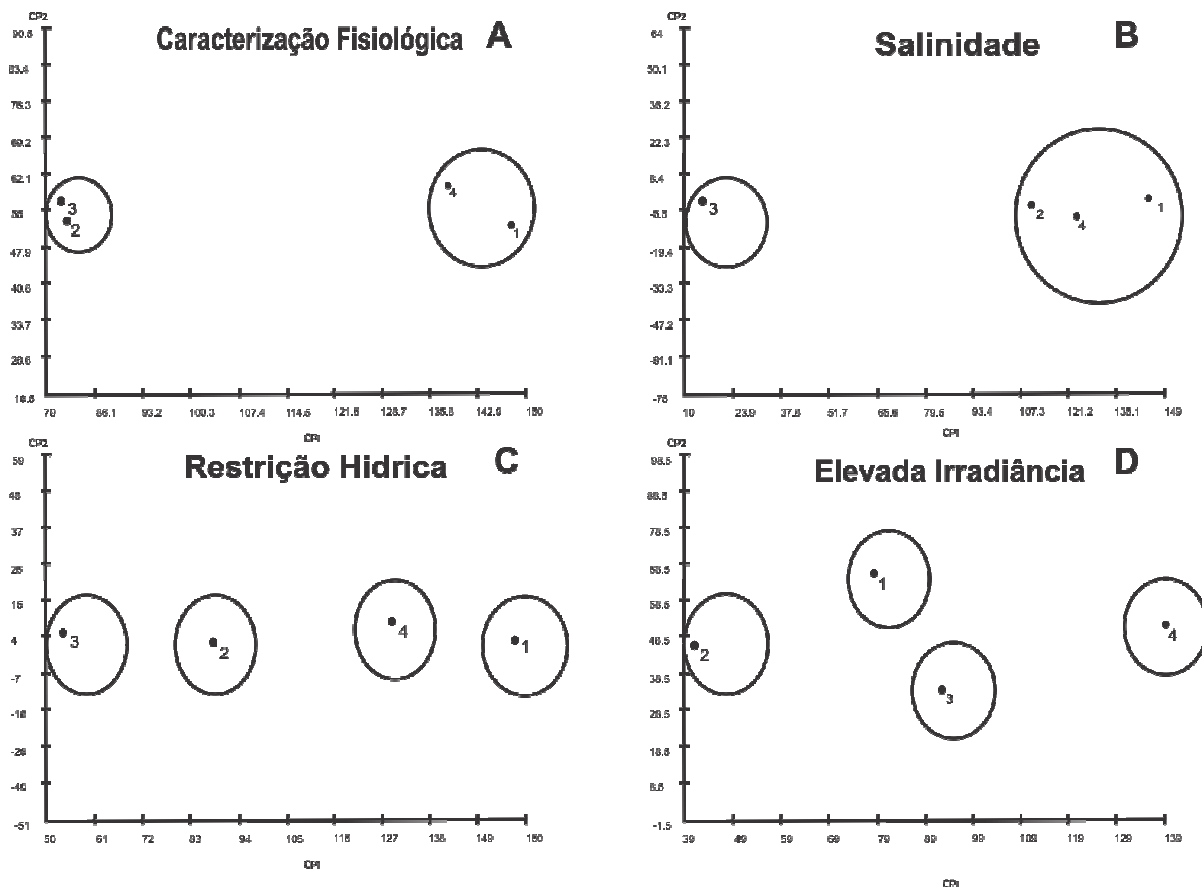


Figura 3. Dispersão gráfica dos dois componentes principais estimados com base nas características de sementes dos quatro genótipos de mamoeiro (1 – híbrido UENF/Caliman 01; 2 – cv. Golden THB; 3 – Híbrido Triplo; 4 – híbrido JS12 x Waimanalo), na condição: A – caracterização fisiológica; B – estresse por salinidade; C – estresse por restrição hídrica; D – estresse por elevada irradiância. A porcentagem acumulada dos dois componentes principais representa mais de 99,9% da variação total.

Observou-se, ainda, que, quanto menor os autovalores correspondentes ao primeiro e segundo componentes principais (CP1 e CP2), ou seja, quanto mais próximos da origem do plano cartesiano, menor o desempenho dos genótipos com relação às características germinativas. Assim, com a dispersão gráfica bidimensional, foi possível discriminar os genótipos quanto ao vigor de sementes e à tolerância destas aos diferentes estresses.

No estresse por salinidade, o Híbrido Triplo (3), que apresentou menor desempenho, ficou isolado dos demais genótipos, ocupando posição próxima à origem no eixo das abscissas (CP1) (Figura 3B).

Sob restrição hídrica, os genótipos não formaram agrupamentos, sendo que o híbrido UENF/Caliman 01, genótipo de maior desempenho neste estresse, encontrou-se em posição distante da origem em relação ao eixo das abscissas (CP1) (Figura 3C). O mesmo foi observado no estresse por elevada irradiância, mas, neste caso, com o híbrido JS12 x Waimanalo ocupando a posição distante (Figura 3D).

De acordo com Cardoso et al. (2009), as análises de diversidade e o agrupamento foram eficientes em discriminar os genótipos de mamoeiro, havendo boa estimativa da variabilidade genética para a qualidade de sementes. Neste trabalho, a análise de dispersão dos componentes principais, juntamente com o teste de médias e com a avaliação do desempenho relativo, permitiram identificar genótipos de maior desempenho germinativo em cada condição de estresse ambiental imposta durante a germinação. Em geral, o híbrido UENF/Caliman 01 apresentou maior desempenho germinativo, e o Híbrido Triplo o menor. Especificamente, na condição de elevada irradiância, o híbrido JS12 x Waimanalo apresenta maior desempenho, e a cv. Golden THB o menor desempenho.

Em virtude da escassez de estudos relacionados ao vigor de sementes em condições de estresse, estudos como este trazem informações relevantes do ponto de vista da propagação e do melhoramento do mamoeiro, uma vez que pode auxiliar na escolha de genótipos (ou de progenitores) de maior desempenho germinativo em condições específicas de estresse ambientais.

CONCLUSÕES

A salinidade induzida por NaCl, e a restrição hídrica induzida por manitol, em potenciais osmóticos inferiores a -0,4 MPa, e a irradiância de 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (sol pleno) conferem condições de estresse durante a germinação de sementes de mamão.

Os híbridos UENF/Caliman 01 e JS12 x Waimanalo apresentam maior potencial de germinação. O híbrido UENF/Caliman 01 apresenta maior desempenho germinativo nas condições de estresses salino e hídrico, enquanto na condição de elevada irradiância, o híbrido JS12 x Waimanalo apresenta maior desempenho. Em geral, o Híbrido Triplo apresenta menor desempenho germinativo.

REFERÊNCIAS

AN P.; LI, X.; ZHENG, Y.; MATSUURA, A.; ABE, J.; ENEJI, A. E.; TANIMOTO, E.; INANAGA, S. Effects of NaCl on root growth and cell wall composition of two soya bean cultivars with contrasting salt tolerance. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 200, p. 212–218, 2014.

CAMPOSTRINI, E.; YAMANISHI, O. K.; MARTINEZ, C. A. Leaf gas exchange characteristics of four papaya genotypes during different stages of development. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 522-525, 2001.

CAMPOSTRINI, E.; GLENN, D. M. Ecophysiology of papaya: a review. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 19 n. 4, p. 413-424, 2007.

CARDOSO, D. L.; SILVA, R. F.; PEREIRA, M. G.; VIANA, A. P. Diversidade genética e parâmetros genéticos relacionados à qualidade fisiológica de sementes em germoplasma de mamoeiro. **Revista Ceres**, v. 56, n. 5, p. 572-579, 2009.

CAVALCANTE, L. F.; CORDEIRO, J. C.; NASCIMENTO, J. A. M.; CAVALCANTE, I. H.; DIAS, T. J. Fontes e níveis de salinidade da água na formação de mudas de mamoeiro cv. Sunrise Solo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, supl. 1, p. 1281-1290, 2010.

CRUZ, C. D. GENES-a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. Agronomy, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

FONTES, R. V.; SANTOS, M. P.; FALQUETO, A. R.; SILVA, D. M.; BACARIN, M. A. Alterações fotossintéticas e de crescimento em plantas de mamoeiro em resposta a diferentes regimes hídricos. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 14, n. 3-4, p. 182-187, jul-set, 2008.

KOSOVÁA, K.; VÍTÁMVÁSA, P.; PRÁŠILA, I. T.; RENAUTB, J. Plant proteome changes under abiotic stress - contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. **Journal of Proteomics**, v. 74, p. 1301-1322, 2011.

LABOURIAU, L. F. G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 174p.

MACEDO, C. M. P.; PEREIRA, M. G.; CARDOSO, D. L.; SILVA, R. F. Evaluation of seed physiological quality of papaya elite hybrids, their reciprocal crosses and parents. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 2, p. 190-197, 2013.

MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, p.176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MENESES, C. H. S.; BRUNO, R. de L. A.; FERNANDES, P. D.; PEREIRA, W. E.; LIMA, L. H. G. de M.; LIMA, M. M. de A.; VIDAL, M. S. Germination of cotton cultivar seeds under water stress induced by polyethyleneglycol-6000. **Scientia Agricola**, v. 68, p. 131-138, 2011.

MENGARDA, L. H. G.; LOPES, J. C.; BUFFON, R. B. Emergência e vigor de mudas de genótipos de mamoeiro em função da irradiância. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44, p. 325-333, 2014.

MURILLO-AMADOR, B.; LÓPEZ-AGUILAR, R.; KAYA, C.; LARRINAGA-MAYORAL, J.; FLORES-HERNÁNDEZ, A. Comparative effects of NaCl and polyethylene glycol on germination, emergence and seedling growth of cowpea. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 188, p. 235-247, 2002.

PATANE C.; SAITA A.; SORTINO, O. Comparative effects of salt and water stress on seed germination and early embryo growth in two cultivars of sweet sorghum. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 199, p. 30–37, 2013.

QUEIROZ, R. J. B.; SANTOS, D. M. M. dos; FERRAUDO, A. S.; CARLIN, S. D.; SILVA, M. de A. Biochemical and physiological responses of sugarcane cultivars to soil water deficiencies. **Scientia Agricola**, v. 68, p. 469-476, 2011.

SALYSBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant physiology**, 4 ed. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1992. 682p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed. 2009. 819p.

TEIXEIRA DA SILVA, J. A.; RASHID, Z.; NHUT, D. T.; SIVAKUMAR, D. Papaya (*Carica papaya* L.) biology and biotechnology. **Tree and Forestry Science and Biotechnology**, v. 1, n. 1, p. 47-73, 2007.

VARDHINI, B. V.; RAO, S. S. R. Amelioration of osmotic stress by brassinosteroids on seed germination and seedling growth of three varieties of sorghum. **Plant Growth Regulation**, v. 41, p. 25-31, 2003.

THE R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING PLATAFORM. **R** - a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna: Austria, 2014.

YU, J.; TUINSTRA M. R.; CLAASSEN, M. M.; GORDON, W. B.; WITT, M. D. Analysis of cold tolerance in sorghum under controlled environment conditions. **Field Crops Reserch**, v. 85, p. 21–30, 2004.

ZHANG X. K.; ZHOU, Q. H.; CAO, J. H.; YU, B. J. Differential Cl⁻/salt tolerance and NaCl-induced alternations of tissue and cellular ion fluxes in *Glycine max*, *Glycine soja* and their hybrid seedlings. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 197, p. 329–339, 2011.

CAPÍTULO IV

DESEMPENHO DAS GERAÇÕES F₁ E F₂ DO MAMOEIRO HÍBRIDO UENF/Caliman 01 E CORRELAÇÕES ENTRE CARACTERÍSTICAS GERMINATIVAS, VEGETATIVAS E REPRODUTIVAS

**DESEMPENHO DAS GERAÇÕES F₁ E F₂ DO MAMOEIRO HÍBRIDO
UENF/Caliman 01 E CORRELAÇÕES ENTRE CARACTERÍSTICAS
GERMINATIVAS, VEGETATIVAS E REPRODUTIVAS**

RESUMO: Objetivou-se caracterizar a qualidade de sementes e o desenvolvimento das plantas das gerações F₁ e F₂ do mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01, e as relações entre as características avaliadas. Foram avaliadas a qualidade físico-química e fisiológica de sementes, características vegetativas e reprodutivas das plantas em campo por 360 dias, e a qualidade dos frutos, sendo comparado o desempenho entre as gerações F₁ e F₂. Foi estimada a contribuição relativa das características para a divergência genética entre as gerações e, com as duas características de maior importância para cada grupo de característica, foram aplicadas as análises de correlação de Pearson e de correlações canônicas. Observou-se que as sementes F₁ apresentaram maior qualidade, enquanto as plantas F₂ apresentaram maiores diâmetro do caule, altura do painel e número de frutos. Observou-se que o maior teor de lipídios nas sementes apresentou associação com o menor número de frutos. Ainda, menores teores de açúcares e de lipídios das sementes e velocidade de germinação apresentaram associação com a menor sobrevivência. Assim, a qualidade das sementes está associada à sobrevivência das plantas do mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01 em campo, mas não apresenta relação positiva com o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo das plantas.

Palavras-chave: *Carica papaya*, biometria, melhoramento de plantas, qualidade fisiológica de sementes.

ABSTRACT: This study aimed to characterize the seeds quality and the plant development of the F₁ and F₂ generations of hybrid papaya UENF/Caliman 01, and the relations between

the characteristics. The physico-chemical and physiological quality of seeds, vegetative and reproductive characteristics of plants in the field for 360 days, and fruit quality were assessed, and the performance between the F₁ and F₂ generations was compared. The characteristics relative contribution to the genetic divergence between generations was estimated and, with the two most important characteristics for each group characteristic, were applied the Pearson correlation analysis and canonical correlations. It was observed that the F₁ seeds had higher quality, while F₂ plants showed higher stem diameter, height of the fruits insertion and fruits number. It was observed that higher levels of lipids in the seeds were associated with lower fruits number. Lower levels of sugars and lipids of seeds and lower speed germination index were associated with lower survival. Thus, seed quality is associated with survival of plants of hybrid papaya UENF/Caliman 01 in the field, but hasn't relation with the vegetative and reproductive development of plants.

Keywords: *Carica papaya*, biometrics, plant breeding, seed physiological quality.

INTRODUÇÃO

As pesquisas de melhoramento do mamoeiro vêm sendo direcionadas para o desenvolvimento de híbridos nacionais, surgindo uma demanda para avaliação destes genótipos quanto ao seu potencial agrônomo (MARIN et al., 2006 a, b; DIAS et al., 2011). Os híbridos de mamoeiro são obtidos pelo cruzamento entre progenitores com *pools* genéticos distintos, resultando em materiais de elevado vigor híbrido. O híbrido UENF/Caliman 01 foi obtido por um cruzamento dialélico, no qual se transferiu o pólen do progenitor do grupo Solo (Sunrise Solo) para os estigmas do progenitor do grupo Formosa (JS12). O híbrido apresenta

características morfoagronômicas superiores, e fenótipo predominantemente do grupo Formosa (FERREGUETTI, 2003).

Plantas geradas a partir do plantio de sementes F_1 de híbridos (em heterose máxima) apresentam características morfofisiológicas ideais, enquanto o plantio de sementes F_2 gera plantas que apresentam segregação e heterogeneidade no pomar, o que compromete a qualidade das lavouras (ANDRADE; PEREIRA, 2005; MARIN et al., 2006 a, b; MACEDO et al., 2013). Logo, torna-se importante a avaliação de genótipos híbridos sob heterose máxima e de suas gerações segregantes.

A avaliação de um genótipo deve-se basear na seleção simultânea de um conjunto de características importantes para a cultura, além da investigação das relações entre estas características (CRUZ et al., 2011). Além disso, são propostas metodologias para a seleção precoce, as quais dependem da avaliação de caracteres que sejam de fácil mensuração, se manifestem antes da produção, e estejam correlacionados com características de interesse, como a produção (SILVA et al., 2007, 2008; OLIVEIRA et al., 2010, 2012; FERREIRA et al., 2012).

Pesquisas sugerem que a seleção precoce de plantas de mamoeiro hermafroditas e mais produtivas pode ser realizada pela avaliação dos diâmetros do caule e da copa, da altura das plantas, da largura das folhas e das características de floração (SILVA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2010; 2012; FERREIRA et al., 2012).

O vigor das sementes atua principalmente nas fases iniciais do desenvolvimento, estando diretamente ligado a porcentagem e velocidade de emergência das plântulas e maior sobrevivência (MARCOS FILHO, 2005; CARDOSO et al., 2009; MACEDO, 2013). No entanto, não há estudos sobre a associação entre características germinativas e o desenvolvimento vegetativo e/ou reprodutivo do mamoeiro.

Desta forma, objetivou-se investigar as características germinativas, vegetativas e reprodutivas do mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01, caracterizando o desempenho das gerações F_1 e F_2 e as relações entre as características avaliadas.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES) e em propriedade rural no Município de Alegre-ES (20° 45'S e 41° 29'W e altitude de 138 m), entre os meses de julho de 2012 e outubro de 2013. Foram utilizadas sementes e mudas das gerações F_1 e F_2 do mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01.

Qualidade físico-química das sementes: com relação à qualidade física, foram avaliadas a umidade (U); o comprimento (C); o diâmetro (D), e o peso de mil sementes (PMS), conforme descrito no Capítulo II (p. 91). A caracterização bioquímica dos teores de açúcares solúveis (A), amido (Am), lipídios (L) e proteínas totais (P) das sementes dos diferentes genótipos foi realizada de acordo com metodologia descrita no Capítulo I (p. 68).

Qualidade fisiológica das sementes: as sementes foram distribuídas em rolos de papel (três folhas de papel germitest), umedecidos com água destilada na proporção equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco, e mantidas em câmara de germinação tipo BOD regulada à temperatura alternada de 20 – 30 °C. Foram avaliados a porcentagem de germinação (G); a primeira contagem de germinação (PCG); a segunda contagem de germinação (SCG); o índice de velocidade de germinação (IVG); o tempo médio de germinação (TMG); e a porcentagem de plântulas normais (PN), conforme metodologia descrita no Capítulo I (p. 68).

Delineamento experimental e análise estatística: com relação à qualidade das sementes, o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC),

com quatro repetições de 25 sementes por genótipo (gerações F₁ e F₂). Os resultados obtidos foram analisados por estatística descritiva (média e o respectivo erro padrão), e comparação das médias pelo teste de Kruskal Wallis (não-paramétrico).

Posteriormente, para a avaliação de características vegetativas e reprodutivas das plantas, sementes F₁ e F₂ foram semeadas em sacolas plásticas (10 x 15 cm) contendo substrato comercial, mantidas em telado sombrite. Após 75 dias da semeadura, as mudas foram transplantadas para o campo sob espaçamento 1,5 x 2,0 m. Foram realizadas irrigações conforme a necessidade da cultura e adubações de acordo a análise do solo e com o manual de recomendação de calagem e adubação para a cultura do mamoeiro no estado do Espírito Santo (PREZOTTI et al., 2007).

Características vegetativas: altura da planta (AP) – foi avaliada do solo ao ápice da copa, e o resultado expresso em cm; diâmetro do caule (DC) – foi avaliado na base do caule, rente ao solo, e o resultado expresso em mm; número de folhas (NF); porcentagem de sobrevivência (SV).

Características reprodutivas: número de flores (NFl); porcentagem de plantas hermafroditas (H); número dos frutos (NFr); altura do painel (APn) – altura de inserção dos frutos, expresso em cm.

Qualidade dos frutos: comprimento (CFr) e diâmetro (DFr), expressos em cm; massa do fruto (MFr) e da polpa (MP), em g; número de sementes por frutos (NSFr); espessura maior e menor da polpa (EmaP e EmeP), em mm, avaliados de frutos coletados após 360 dias.

Delineamento experimental e análise estatística: O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados (DBC), com quatro blocos e cinco plantas por parcela, em área experimental com 120 m². Foram realizadas avaliações a cada 60 dias até 180 dias, e a cada 30 dias até 360 dias.

Os resultados foram analisados por estatística descritiva (média e o respectivo erro padrão), e comparação das médias pelo teste de Friedman (não-paramétrico). Para a avaliação das plantas ao longo do tempo, foi aplicada análise de regressão, sendo adotados os modelos significativos ($p \leq 5\%$), e com maior coeficiente de determinação (R^2), utilizando o programa R (THE R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING PLATAFORM, 2014).

Procedeu-se a análise multivariada dos dados, sendo estabelecidos os seguintes grupos de características: 1) físico-químicas das sementes (U, C, D, A, Am, L e P); 2) fisiológicas das sementes (G, PCG, SCG, IVG, TMG e PN); 3) características vegetativas das plantas (AP, DC, NF, SV); 4) características reprodutivas das plantas (NFl, H, NFr e APn); 5) qualidade dos frutos (CFr, DFr, MFr, MP, NSFr, EmaP e EmeP). Para cada grupo foi avaliada a contribuição relativa das características para a divergência genética entre as gerações pelo método de Singh. Com as duas características de maior importância para cada grupo, foram aplicadas as análises de correlação de Pearson e de correlações canônicas entre os grupos de características relacionadas às sementes (1 e 2), denominado Grupo I *versus* Grupo II, que incluiu as características relacionadas às plantas e à qualidade dos frutos (4, 5 e 6). Foi utilizando o programa Genes (CRUZ, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes F_1 apresentaram maior comprimento, maiores teores de açúcares e de lipídios que as sementes F_2 (Figura 1). A caracterização fisiológica das sementes evidenciou que as sementes F_1 apresentaram maior vigor, com maior média de porcentagem de germinação total, bem como na contagem realizada aos sete e aos 14 dias, e maior porcentagem de plântulas normais. As sementes F_1 também apresentaram germinação mais rápida (maior índice de velocidade, e menor tempo médio de germinação).

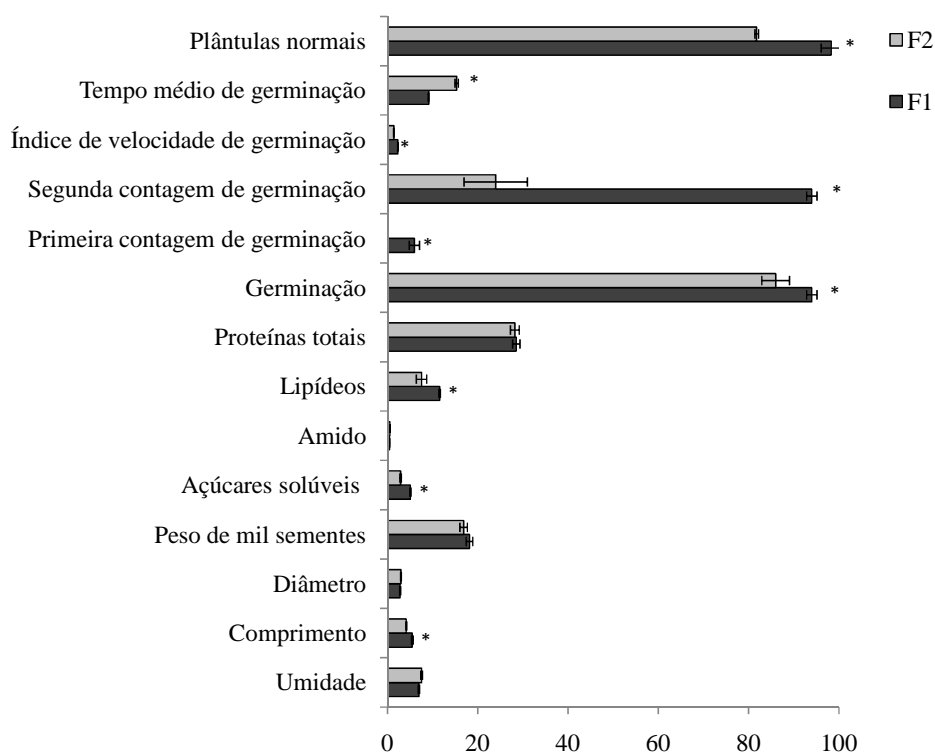


Figura 1. Características das sementes F₁ e F₂ de mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01: umidade (%), comprimento e diâmetro (mm), peso de mil sementes (g), teores de açúcares solúveis, amido, lipídios e proteínas totais (%) (em base de massa: mg mg⁻¹), germinação, primeira e segunda contagem de germinação (%), índice de velocidade de germinação, tempo médio de germinação (dias), e plântulas normais (%). *as médias são estatisticamente diferentes pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 5\%$). As barras representam o erro padrão da média (n=4).

As sementes da geração F₁ do híbrido apresentam maior qualidade. Como a propagação comercial do mamoeiro é realizada por sementes, a utilização de sementes de alta qualidade é fundamental para o estabelecimento de mudas vigorosas e saudáveis. Em geral, a qualidade fisiológica das sementes está diretamente ligada à porcentagem e velocidade de emergência, o que exerce influência, principalmente, nas fases iniciais do desenvolvimento das plântulas

(MARCOS FILHO, 2005). Logo, o plantio de sementes F_1 do mamoeiro híbrido é mais adequado a fim de obter um estande homogêneo de mudas.

Verificou-se, no entanto, que as diferenças entre as gerações F_1 e F_2 do mamoeiro híbrido tornaram-se menos evidentes após o transplântio das mudas para o campo (Figuras 2 e 3), havendo sincronia no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo entre as gerações.

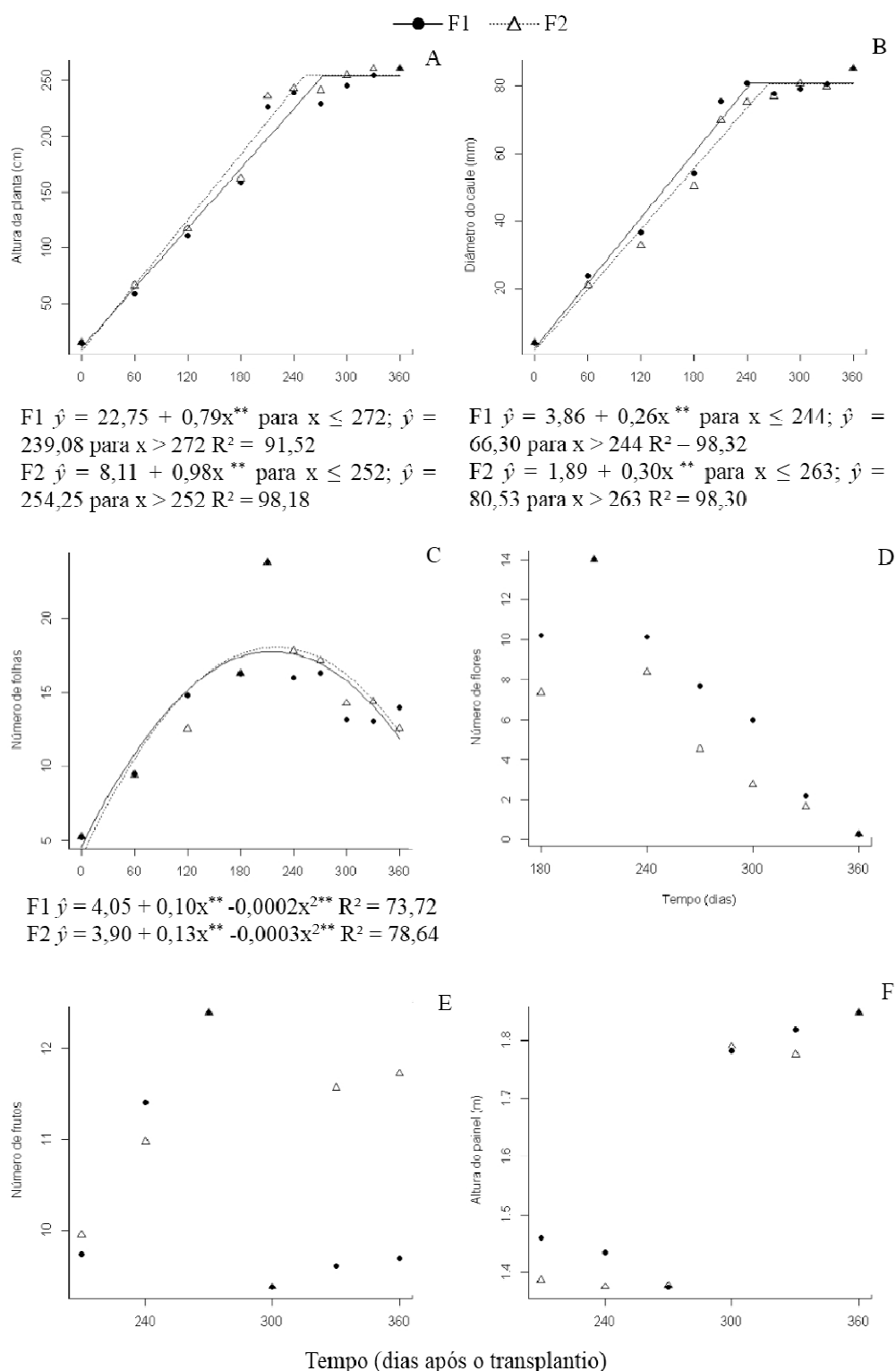


Figura 2. Desenvolvimento de plantas das gerações F₁ e F₂ de mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01 durante 360 dias: A) altura da planta (cm); B) diâmetro do caule (mm); C) número de folhas; D) número de flores; E); número de frutos; e F) altura do painel (cm). *, ** e ^{ns}: significativo em nível de 5 e 1% de probabilidade, e não significativo, respectivamente.

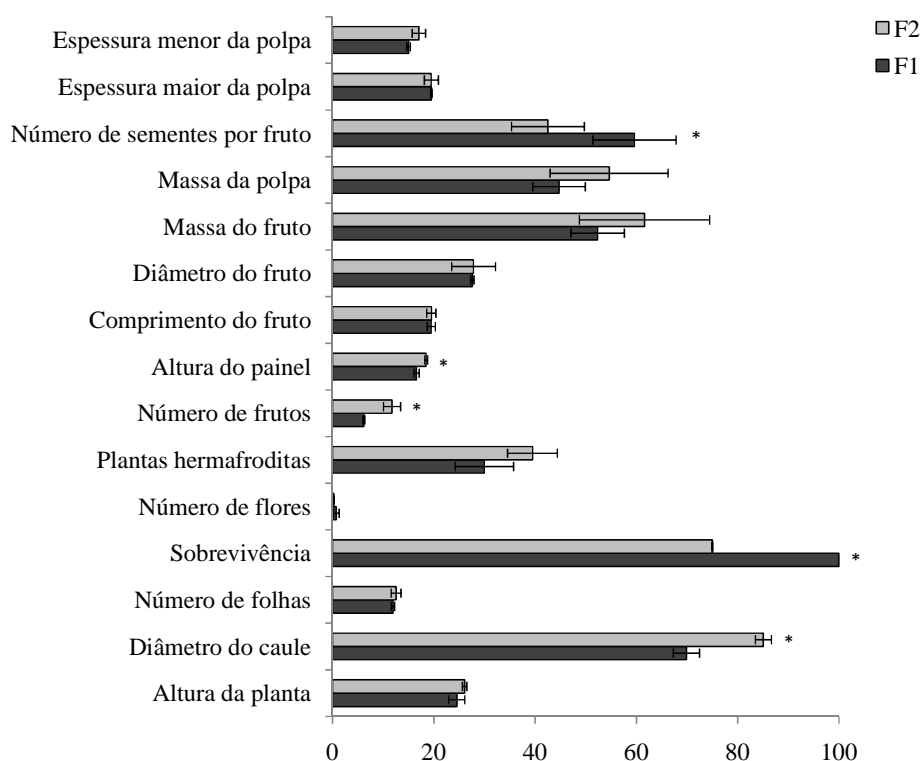


Figura 3. Características vegetativas e reprodutivas das plantas das gerações F₁ e F₂ de mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01 avaliadas aos 360 dias após o transplante: altura da planta (cm.10⁻¹), diâmetro do caule (mm), número de folhas, sobrevivência (%), número de flores, plantas hermafroditas (%), número dos frutos, altura do painel (cm.10⁻¹), comprimento e diâmetro dos frutos (cm), massa do fruto e da polpa (g.10⁻¹), número de sementes por frutos (10⁻¹), espessura maior e menor da polpa (mm). * as médias são estatisticamente diferentes pelo teste de Friedman ($p \leq 5\%$). As barras representam o erro padrão da média (n=4).

Para as características altura da planta e diâmetro do caule, observou-se uma resposta ajustada ao modelo platô (Figura 2A e B). As plantas da geração F₁ apresentaram crescimento em altura até os 272 dias, e F₂ até 252 dias, quando houve tendência à estabilização. Para o diâmetro do caule, as plantas das gerações F₁ e F₂ apresentaram estabilização após 244 e 263 dias, respectivamente. Após 360 dias do transplante, as plantas F₂ apresentaram maior diâmetro do caule (Figura 3).

Para o número médio de folhas, os dados foram ajustados ao modelo quadrático, com ponto de máximo estimado em 178 dias para plantas da geração F_1 , e 214 dias para F_2 (Figura 2C). O início da floração foi observado após 180 dias, e a formação de frutos após 210 dias (Figura 2D e E), sendo que as plantas F_2 apresentaram maior número médio de frutos e maior altura do painel (Figura 3), características para as quais não houve ajuste aos modelos de regressão.

As plantas da geração F_1 apresentaram 100% de sobrevivência, enquanto 25% das plantas F_2 morreram. Com relação à porcentagem de plantas hermafroditas não foi observada diferença entre as gerações F_1 e F_2 (30 e 39,5%) (Figura 3). As características biométricas dos frutos não apresentaram diferença entre as plantas F_1 e F_2 , à exceção do número de sementes por frutos, que foi maior para F_1 .

Com relação ao desempenho da geração F_2 com relação à F_1 (Figura 4), entre as características físico-químicas das sementes, as sementes F_2 apresentaram menor desempenho para 62,5% das características (C, PMS, A, L e P); com relação à qualidade fisiológica das sementes, o desempenho de F_2 foi inferior para 100% das características (G, PCG, SCG, IVG, TMG e PN).

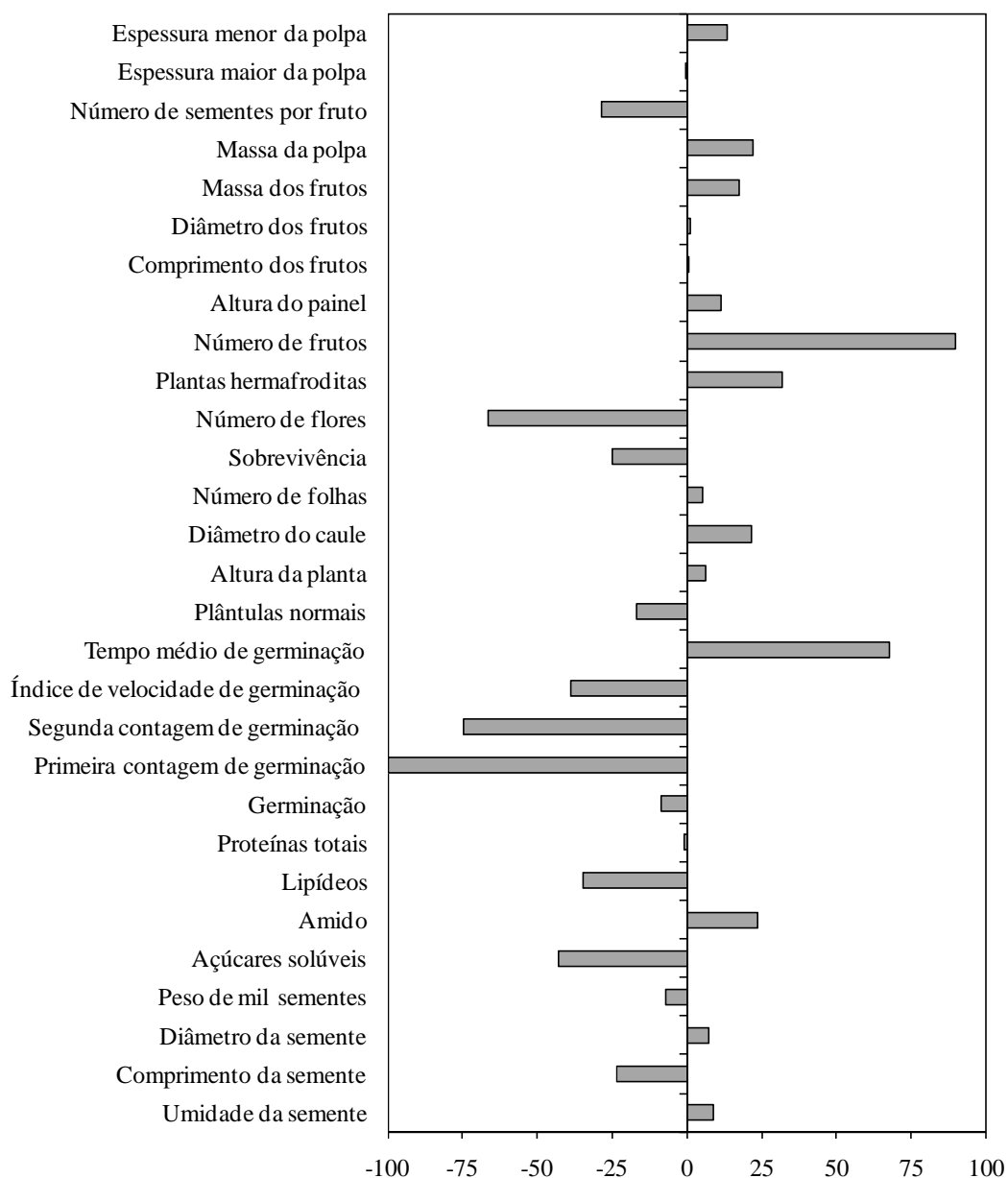


Figura 4. Desempenho da geração F₂ com relação à geração F₁ do híbrido UENF/Caliman 01 (considerando F₁ como 100%), para as características das sementes: umidade (%), comprimento e diâmetro (mm), peso de mil sementes (g), teores de açúcares solúveis, amido, lipídios e proteínas totais (%) (em base de massa: mg mg⁻¹), germinação, primeira e segunda contagem de germinação (%), índice de velocidade de germinação, tempo médio de germinação (dias), plântulas normais (%); das plantas: altura da planta (cm), diâmetro do caule (mm), número de folhas, sobrevivência (%), número de flores, plantas hermafroditas

(%), número de frutos, altura do painel (cm); e dos frutos: comprimento e diâmetro (cm), massa do fruto e da polpa (g), número de sementes por fruto, espessura maior e menor da polpa (mm), avaliadas após 360 dias do transplântio.

Desta forma, observou-se que as sementes F_1 , em heterose máxima, apresentaram maior germinação e vigor. Macedo et al. (2013) também observaram o efeito benéfico da heterose, refletido na maior qualidade fisiológica das sementes F_1 de mamoeiro.

Em contrapartida, com relação às características vegetativas e reprodutivas das plantas, a geração F_2 apresentou desempenho superior quanto ao diâmetro do caule, à altura do painel e ao número de frutos. No entanto, apesar das médias serem, em geral, superiores à F_1 , a geração F_2 apresentou expressiva heterogeneidade, especialmente com relação à altura das plantas, ao número e formato do frutos. Além disso, 25% das plantas da geração F_2 morreram após o transplântio para o campo.

Em geral, os plantios sucessivos com as gerações F_2 , F_3 e F_4 de mamoeiros híbridos causam a perda do vigor, além de heterogeneidade com relação às características de interesse (ANDRADE; PEREIRA, 2005; MARIN et al., 2006 a, b). No presente estudo, com base nas médias obtidas, não se observou redução do vigor híbrido, mas sim heterogeneidade decorrente da segregação.

Embora os genótipos segregantes não sejam desejados para o cultivo, em especial pela heterogeneidade, as gerações segregantes podem representar importante fonte de variabilidade genética para os programas de melhoramento do mamoeiro. Desta forma, o estudo de gerações segregantes com vistas à seleção de genótipos superiores, a fim de uso *per se* ou como progenitores para o desenvolvimento de novas cultivares torna-se interessante (SILVA et al., 2007, 2008).

Dentro de cada grupo de característica, aquelas que apresentaram maior contribuição para o estudo da diversidade entre as gerações F_1 e F_2 ($Cr \geq 25\%$) foram: a) teores de açúcares solúveis e de lipídios (físico-química de sementes); b) índice de velocidade e tempo médio de germinação (fisiológicas das sementes); c) sobrevivência e diâmetro do caule (vegetativas), número de frutos por planta e altura do painel (reprodutivas); d) massas do fruto e da polpa (qualidade dos frutos) (Tabela 1).

Tabela 1. Contribuição relativa (cr%) das características das gerações F₁ e F₂ do mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01, pelo método proposto por Singh (1981), baseado em D² de Mahalanobis

| Características físico-químicas das sementes | cr% |
|--|-------|
| Umidade (U) | 06,02 |
| Comprimento (C) | 16,42 |
| Diâmetro (D) | 05,82 |
| Peso de mil sementes (PMS) | 00,87 |
| Açúcares solúveis (A) | 41,32 |
| Amido (Am) | 02,48 |
| Lipídios (L) | 25,81 |
| Proteínas totais (P) | 01,27 |
| Características fisiológicas das sementes | |
| Germinação (G) | 07,25 |
| Primeira contagem de germinação (PCG) | 12,47 |
| Segunda contagem de germinação (SCG) | 04,36 |
| Índice de velocidade de germinação (IVG) | 40,62 |
| Tempo médio de germinação (TMG) | 27,45 |
| Plântulas normais (PN) | 07,84 |
| Características vegetativas | |
| Altura da plântula (AP) | 01,26 |
| Diâmetro do caule (DC) | 38,14 |
| Número de folhas (NF) | 04,46 |
| Sobrevivência (SV) | 56,14 |
| Características reprodutivas | |
| Número de flores (NFI) | 04,07 |
| Plantas hermafroditas (H) | 09,42 |
| Número de frutos (NFr) | 60,34 |
| Altura do painel (APn) | 26,17 |
| Qualidade dos Frutos | |
| Comprimento (CFr) | 00,04 |
| Diâmetro (DFr) | 00,96 |
| Massa do fruto (MFr) | 38,37 |
| Massa da polpa (MP) | 34,46 |
| Número de sementes por fruto (NSFr) | 07,56 |
| Espessura maior da polpa (EMaP) | 0,002 |
| Espessura menor da polpa (EMeP) | 18,61 |

A avaliação de multicaracterísticas gera análises mais informativas e eficientes para caracterizar os genótipos (CRUZ et al., 2011; DIAS et al., 2011). Com base na correlação fenotípica entre as características de maior importância, observou-se que a qualidade das

sementes exerce influência positiva sobre a sobrevivência das plantas em campo, mas não interfere na qualidade dos frutos (Tabela 2).

Tabela 2. Correlações de Pearson entre as características de maior importância relativa ($Cr \geq 25\%$): teor de açúcares solúveis (A), teor de lipídios (L), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG), porcentagem de sobrevivência (SV), diâmetro do caule (DC), número dos frutos (NFr), altura do painel (APn), massa do fruto (MFr) e massa da polpa (MP), de sementes e plantas das gerações F_1 e F_2 do mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01

| Características | A | L | IVG | TMG | SV | DC | NFr | APn | MFr | MP |
|-----------------|---|------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|-------|--------|
| A | - | 0,62 | 0,87** | -0,90** | 0,82* | -0,97** | -0,62 | -0,89** | -0,25 | -0,29 |
| L | - | - | 0,86** | -0,79* | 0,63 | -0,56 | -0,92** | -0,36 | 0,03 | 0,00 |
| IVG | - | - | - | -0,98** | 0,82* | -0,82* | -0,81* | -0,60 | -0,22 | -0,27 |
| TMG | - | - | - | - | -0,86** | 0,82* | 0,76* | 0,67 | 0,25 | 0,31 |
| SV | - | - | - | - | - | -0,75* | -0,61 | -0,61 | -0,64 | -0,67 |
| DC | - | - | - | - | - | - | 0,55 | 0,89** | 0,24 | 0,27 |
| NFr | - | - | - | - | - | - | - | 0,41 | -0,02 | 0,03 |
| APn | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,09 | 0,13 |
| MFr | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,99** |
| MP | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

*, ** significativo em nível de 5 e 1%, respectivamente, pelo teste t.

Verificou-se que a qualidade físico-química das sementes (maior A e L) apresentou relação direta com a qualidade fisiológica (maior IVG e menor TMG) (Tabela 2). Correlação entre características de qualidade de sementes também foram observadas com outras espécies. Em melão foi verificada elevada correlação entre maior teor de amido e menor tempo médio de germinação (maior vigor) (WANG et al., 2011). Em *Brassica chinensis* foi observada correlação entre a porcentagem e o tempo de germinação (SANTANA; RANAL, 2006). Em soja foi observada correlação entre o teor de lignina nas sementes e a porcentagem de plântulas normais, o que pode conferir maior potencial de armazenamento e de germinação às sementes (MENEZES et al., 2009).

IVG e TMG apresentaram correlação positiva com a sobrevivência (SV), e negativa com diâmetro do caule (DC) e número de frutos (NFr) (Tabela 2). Logo, observou-se associação entre a qualidade físico-química e fisiológica das sementes, que, por sua vez, apresentou associação com a sobrevivência das plantas no campo, confirmando a afirmação de que o vigor de sementes atua, principalmente, nas fases iniciais do desenvolvimento das plântulas, estando diretamente ligado à sobrevivência das plantas (MARCOS FILHO, 2005).

Investigando a relação entre as características de qualidade de sementes (Grupo I) *versus* desenvolvimento das plantas e qualidade dos frutos (Grupo II), observou-se que as três primeiras correlações canônicas foram significativas (Tabela 3). Desta forma, os grupos se relacionaram de forma dependente, sendo que os três primeiros pares canônicos devem ser considerados (CRUZ et al., 2011).

Tabela 3. Correlações canônicas (r) e pares canônicos estimados entre as características de sementes (Grupo I) e de plantas (Grupo II) das gerações F₁ e F₂ do mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01

| Características | Pares canônicos | | | |
|--|--------------------------|-------|--------------|--------------------|
| | 1° | 2° | 3° | 4° |
| | Grupo I | | | |
| Açúcares solúveis (A) | 0,07 | -0,08 | <u>-0,98</u> | 0,19 |
| Lipídios (L) | <u>0,63</u> ¹ | 0,13 | -0,70 | -0,37 |
| Índice de velocidade de germinação (IVG) | 0,26 | -0,13 | <u>-0,92</u> | -0,27 |
| Tempo médio de germinação (TMG) | -0,09 | 0,03 | <u>0,96</u> | 0,25 |
| | Grupo II | | | |
| Sobrevivência (SV) | 0,01 | 0,03 | <u>-0,86</u> | -0,10 |
| Diâmetro do caule (DC) | -0,16 | 0,23 | <u>0,90</u> | -0,32 |
| Número de frutos (NFr) | <u>-0,52</u> | -0,17 | 0,67 | 0,33 |
| Altura do painel (APn) | <u>0,08</u> | -0,07 | <u>0,83</u> | -0,52 |
| Massa do fruto (MFr) | 0,30 | 0,32 | 0,26 | 0,09 |
| Massa da polpa (MP) | 0,33 | 0,33 | 0,31 | 0,12 |
| Correlação canônica (r) | 1,00* | 1,00* | 0,99* | 0,92 ^{ns} |
| Graus de liberdade | 24 | 15 | 8 | 3 |

* e ^{ns} = significativo e não significativo, respectivamente, em nível de 5% de probabilidade, pelo teste de qui-quadrado.¹ Valores sublinhados referem-se as variáveis que predominaram na explicação da variância total.

A associação entre os dois grupos foi estabelecida, principalmente, por influência das seguintes correlações canônicas: a) maior teor de lipídios nas sementes (Grupo I) foi determinante no menor número de frutos (Grupo II); e b) menores teores de açúcares e de lipídios das sementes, e a menor velocidade de germinação (Grupo I), foram determinantes na menor sobrevivência das plantas, e nos maiores diâmetro do caule e altura do painel (Grupo II) (Tabela 3).

Estudos evidenciaram que a análise de características vegetativas e juvenis pode prever maior produtividade e maior qualidade dos frutos de mamoeiro. Plantas de maior diâmetro de caule podem resultar em plantas mais produtivas (SILVA et al., 2007). A altura da planta, o número de flores por pedúnculo e a largura da folha estão relacionados com o número de frutos (OLIVEIRA et al., 2010). Maior número de frutos pode ser predito pelo maior diâmetro da copa e pela diminuição da altura das plantas; maior massa dos frutos está relacionada com maiores diâmetro do caule, tamanho do painel e comprimento dos frutos (FERREIRA et al., 2012).

Embora o estudo das relações entre grupos de características levante informações de interesse para a seleção precoce, isto nem sempre é possível. Em feijoeiro, a correlação entre melhor porte e maior produtividade de grãos foi pequena e negativa (SILVA et al., 2009). No presente trabalho, não foram observadas correlações positivas entre a qualidade de sementes e produção em mamoeiro.

CONCLUSÕES

As sementes F_1 do mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01 apresentam maior qualidade físico-química e fisiológica, enquanto as plantas da geração F_2 apresentam médias superiores de diâmetro do caule, altura do painel e número de frutos.

A qualidade das sementes está associada à maior sobrevivência das plantas em campo, mas não apresenta relação positiva com as características vegetativas e reprodutivas das plantas.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, J. A. C.; PEREIRA, F. C. D. Uso do efeito xênia em híbridos comerciais de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 4, n. 1, p. 65-78, 2005.

CARDOSO, D. L.; SILVA, R. F.; PEREIRA, M. G.; VIANA, A. P. Diversidade genética e parâmetros genéticos relacionados à qualidade fisiológica de sementes em germoplasma de mamoeiro. **Revista Ceres**, v. 56, n. 5, p. 572-579, 2009.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Viçosa: UFV, 2011, 620p.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. Agronomy, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

DIAS, N. L. P.; OLIVEIRA, E. J.; DANTAS, J. L. L. Avaliação de genótipos de mamoeiro com uso de descritores agrônômicos e estimação de parâmetros genéticos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 11, p. 1471-1479, 2011.

FERREGUETTI, G. A. Caliman 01 – o primeiro híbrido de mamão formosa brasileiro. In: Simpósio do papaia brasileiro - Papaya Brasil – qualidade do mamão para o mercado interno, 2003, Vitória. **Anais...** Vitória: INCAPER, 2003.

FERREIRA, J. P.; SCHMILDT, O.; SCHMILDT, E. R.; PIANTAVINHA, W. C.; CATTANEO, L. F. Correlações entre características morfo-agronômicas de acessos de mamoeiro. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 14, p. 246-257, 2012.

MACEDO, C. M. P.; PEREIRA, M. G.; CARDOSO, D. L.; SILVA, R. F. Evaluation of seed physiological quality of papaya elite hybrids, their reciprocal crosses and parents. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 2, p. 190-197, 2013.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MARIN, S. L. D.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; MARTELLETO, L. A. P.; IDE, C. D. Heterosis in papaya hybrids from partial diallel of 'Solo' and 'Formosa' parents. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 24-29, 2006a.

MARIN, S. L. D.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; MARTELLETO, L. A. P.; IDE, C. D. Partial diallel to evaluate the combining ability for economically important traits of papaya. **Scientia Agricola**, v. 63, n. 6, p. 540-546, 2006b.

MENEZES, M. de; VON PINHO, E. V. de R.; JOSÉ, S. C. B. R.; BALDONI, A.; MENDES, F. F. Aspectos químicos e estruturais da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 12, p. 1716-1723, 2009.

OLIVEIRA, E. J.; LIMA, D. S.; 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.; DIAS, N. L. P.; DANTAS, J. L. L. Selection of morpho-agronomic descriptors for characterization of papaya cultivars. **Euphytica**, v. 185, p. 253-265, 2012.

PREZOTTI, L. C.; GOMES, J. A.; DADALTO, G. G.; OLIVEIRA, J. A. de. **Manual de recomendação de calagem e adubação para o estado do Espírito Santo**. 5ª aproximação. Vitória: SEEA/INCAPER/CEDAGRO, 2007, 305p.

SANTANA, D. G.; RANAL, M. A. Linear correlation in experimental design models applied to seed germination. **Seed Science & Technology**, v. 34, p. 233-239, 2006.

SILVA, C. A.; ABREU, A. de F. B.; RAMALHO, M. A. P. Associação entre arquitetura de planta e produtividade de grãos em progênies de feijoeiro de porte ereto e prostrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 12, p. 1647-1652, 2009.

SILVA, F. F.; PEREIRA, M. G.; RAMOS, H. C. C.; DAMASCENO JUNIOR, P. C.; PEREIRA, T. N. S.; IDE, C. D. Genotypic correlations of morpho-agronomic traits in papaya and implications for genetic breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 7, p. 345-352, 2007.

SILVA, F. F.; PEREIRA, M. G.; RAMOS, H. C. C.; DAMASCENO JUNIOR, P. C.; PEREIRA, T. N. S.; GABRIEL, A. P. C.; VIANA, A. P.; FERREGUETTI, G. A. Selection

and estimation of the genetic gain in segregating generations of papaya (*Carica papaya* L.). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 8, p. 1-8, 2008.

THE R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING PLATAFORM. **R** - a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna: Austria, 2014.

WANG, T.; SISTRUNK, L. A.; LESKOVAR, D. I.; COBB, B. G. Characteristics of storage reserves of triploid watermelon seeds: association of starch and mean germination time. **Seed Science & Technology**, v. 39, p. 318-326, 2011.

CAPÍTULO V

EM BIOGÊNESE SOMÁTICA DE EXPLANTES JUVENIS E DE PLANTAS

HERMAFODITAS DE MAMOEIRO HÍBRIDO UENF/Caliman 01

EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA DE EXPLANTES JUVENIS E DE PLANTAS HERMAFODITAS DE MAMOEIRO HÍBRIDO UENF/Caliman 01

RESUMO: Objetivou-se induzir a embriogênese somática de mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01, a partir de explantes juvenis e de plantas hermafroditas, utilizando diferentes fontes e concentrações de auxina. Segmentos de folha cotiledonar de plântulas germinadas *in vitro* foram induzidos à embriogênese somática em nove tratamentos com diferentes concentrações de 4-CPA e 2,4-D. Foram avaliadas as frequências relativas de calogênese, embriogênese, número de embriões somáticos por calo, organogênese, e plântulas normais e anormais. A suplementação do meio com 36 μM de 2,4-D foi eficiente na formação de maior número de embriões somáticos (46,7 embriões calo^{-1}). A adição de 48 μM de 2,4-D no meio de cultura foi mais eficiente para a maior frequência de plântulas normais (entre 16 e 30%). Posteriormente, segmentos de folhas jovens de plantas hermafroditas foram induzidos à embriogênese em três tratamentos com diferentes concentrações de 2,4-D, e quatro tratamentos de maturação, combinando concentrações de ABA com composição do meio MS. Foram avaliadas a frequência relativa de calogênese, oxidação, embriogênese, organogênese, número de embriões somáticos por calo e a fase de desenvolvimento do embrião. Os tratamentos de indução com concentração $\geq 36 \mu\text{M}$ de 2,4-D promoveram menor calogênese e maior oxidação dos explantes. Foram obtidos embriões somáticos (1,62 embriões calo^{-1}) de plantas hermafroditas do mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01 a partir do cultivo *in vitro* em meio com concentração inicial de 9 μM de 2,4-D.

Palavras-chave: *Carica papaya*, ácido 4-clorofenóxiacético, ácido 2,4-diclorofenóxiacético, propagação *in vitro*.

ABSTRACT: The objective of this study was to induce somatic embryogenesis from juvenile explants and hermaphrodite plants of papaya hybrid UENF/Caliman 01, using different sources and concentrations of auxin. Cotyledon segments from seedlings germinated *in vitro* were induced to somatic embryogenesis in nine treatments with different concentrations of 4-CPA and 2.4-D. The relative frequencies of callus formation, embryogenesis, number of somatic embryos per callus, organogenesis and normal and abnormal plantlets were evaluated. Supplementation of the medium with 36 μM of 2.4-D was effective in the formation of higher number of somatic embryos (46.7 embryos callus⁻¹). The addition of 48 μM of 2.4-D in the culture medium was more efficient for the increased frequency of normal plantlets (between 16 and 30%). Subsequently, young leaf segments of hermaphroditic plants were induced to embryogenesis in three treatments with different concentrations of 2.4-D and four maturation treatments combining the ANA concentrations and the MS medium composition. The relative frequency of callus formation, oxidation, embryogenesis, organogenesis, number of somatic embryos per callus and the stage of embryo development were evaluated. The induction treatments with concentration $\geq 36 \mu\text{M}$ of 2.4-D promoted lower callus formation and higher explants oxidation. Somatic embryos (1.62 embryos callus⁻¹) of hermaphrodite plants of the hybrid papaya UENF/Caliman 01 were obtained from *in vitro* culture in medium with initial concentration of 9 μM of 2.4-D.

Keywords: *Carica papaya*, 4-chlorophenoxyacetic acid, 2.4-dichlorophenoxyacetic acid, *in vitro* propagation.

INTRODUÇÃO

A propagação seminífera do mamoeiro (*Carica papaya* L.) apresenta algumas limitações atribuídas à variabilidade genética e à biologia reprodutiva da espécie. Somente os frutos de plantas hermafroditas apresentam interesse comercial e, não sendo possível prever o sexo da planta antes desta atingir a maturidade reprodutiva, faz-se necessário o plantio de, no mínimo, três mudas por cova (DANTAS et al., 2013), com alguns relatos de até seis mudas por cova (ALEXANDRE, comunicação pessoal). Desta forma, oneram-se os gastos com insumos (sementes, água, adubos e produtos fitossanitários) e tratos culturais (sexagem, controle de pragas e doenças).

Mediante esta problemática, técnicas biotecnológicas têm sido investigadas e utilizadas como alternativas para a propagação convencional por sementes, incluindo a embriogênese somática (HERINGER et al., 2013). A embriogênese somática permite a propagação de uma grande quantidade de clones a partir de um único explante inicial (que pode advir de plantas juvenis ou adultas). Assim, esta técnica pode representar uma redução expressiva dos custos com a aquisição de sementes, além de possibilitar a obtenção de clones de plantas hermafroditas (ALMEIDA et al., 2001; FARZANA et al., 2008; KOEHLER et al., 2013).

A indução e a modulação da embriogênese somática são controladas por estímulos fisiológicos, como estágio fisiológico do explante, por fatores ambientais, como a época de coleta do material vegetal, e por componentes químicos, como a concentração de regulador de crescimento imposta durante a cultura (GAJ, 2004; GUERRA et al., 2006; CID, 2010). Em mamão, a embriogênese somática foi induzida pela primeira vez há cerca de 40 anos (BRUIJNE et al., 1974) e, embora muitos esforços venham sendo realizados para otimizar os protocolos, o processo é dificultado devido às inúmeras variáveis, incluindo os níveis endógenos de hormônios, fatores genéticos e epigenéticos (VALE et al., 2014).

Pesquisas com *C. papaya* sugerem respostas embriogênicas específicas da espécie com relação ao genótipo, ao explante inicial utilizado, ao tipo e às concentrações de reguladores de crescimento (CASTILLO et al., 1998; CAI et al., 1999; ALMEIDA et al., 2000; 2001; RENUKDAS et al., 2004; SAHA et al., 2004; ASCENCIO-CABRAL et al., 2008; CLARINDO et al., 2008; FARZANA et al., 2008; ABREU, 2010; KUNG et al., 2010; MALABADI et al., 2011; DETONI, 2013; KOEHLER et al., 2013; HERINGER et al., 2013; CHAGAS, 2014).

Recentemente, Heringer et al. (2013) e Vale et al. (2014) apresentaram um protocolo de embriogênese somática para o mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01, utilizando embriões zigóticos imaturos como explante inicial. Há uma demanda para o estabelecimento de protocolos para a embriogênese somática do mamoeiro partindo de explantes de plantas juvenis e hermafroditas. Neste sentido, objetivou-se induzir a embriogênese somática *in vitro* de mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01, a partir de explantes juvenis e de plantas hermafroditas, utilizando diferentes fontes e concentrações de auxina.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Análise de Sementes (LAS) e de Cultura de Tecidos do Departamento de Produção Vegetal, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES).

Embriogênese somática a partir de explantes juvenis: sementes de *C. papaya* do híbrido UENF/Caliman 01 foram submetidas à lavagem em água e solução de detergente, e enxágue por três vezes em água destilada, sofrendo assepsia em álcool 70% por cinco minutos e solução de hipoclorito de sódio comercial (1% de cloro ativo) por 15 minutos, e em peróxido de hidrogênio 50% por 10 minutos e, em seguida, enxaguadas por três vezes em

água destilada e autoclavada. Estas foram colocadas para germinar *in vitro* em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), fornecendo explantes (segmentos de folha cotiledonar) para indução da embriogênese somática.

Foram estabelecidos nove tratamentos de indução (MI), onde permaneceram por 60 dias. Posteriormente, o material foi transferido para o meio de maturação (MM), por 60 dias, meio de germinação (MG), por 60 dias, e de crescimento (MC), por 30 dias, totalizando 210 dias de cultivo. Os tratamentos consistiram em meio MS, com concentração de sais completa ou meia força, diferentes suplementações, concentrações de reguladores e condições ambientais, conforme Tabela 1.

Tabela 1. Componentes do meio de cultura de indução (MI), maturação (MM), germinação (MG) e crescimento (MC), e condição de cultivo durante a embriogênese somática a partir de folhas cotiledonares de plântulas propagadas *in vitro* por sementes do mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01

| Componentes do meio de cultura | | MI | | MM | | MG | MC |
|--------------------------------------|----|------|------|------|------|------|------|
| Tempo (dias) | | 0 | 60 | 120 | 150 | 180 | 210 |
| Sais MS Sigma® (g L ⁻¹) | | 2,15 | 2,15 | 4,30 | 4,30 | 4,30 | 4,30 |
| Glutamina (mg L ⁻¹) | | 400 | 400 | 400 | 400 | 400 | 400 |
| Mio-inositol (mg L ⁻¹) | | - | - | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Vitaminas (mL L ⁻¹) | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Sacarose (g L ⁻¹) | | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| Ágar (g L ⁻¹) | | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| | T0 | - | - | - | - | - | - |
| | T1 | 12 | 12 | - | - | - | - |
| 4-CPA ⁽¹⁾ (µM) | T2 | 24 | 24 | - | - | - | - |
| | T3 | 36 | 36 | - | - | - | - |
| | T4 | 48 | 48 | - | - | - | - |
| | T5 | 12 | 12 | - | - | - | - |
| 2,4-D ⁽²⁾ (µM) | T6 | 24 | 24 | - | - | - | - |
| | T7 | 36 | 36 | - | - | - | - |
| | T8 | 48 | 48 | - | - | - | - |
| Luz | | - | - | sim | sim | sim | sim |
| ABA ⁽³⁾ (µM) | | - | - | 0,5 | 0,5 | - | - |
| Carvão ativado (mg L ⁻¹) | | - | - | 15 | 15 | - | - |
| GA ₃ ⁽⁴⁾ (µM) | | - | - | - | - | 0,5 | - |
| Temperatura ⁽⁵⁾ (°C) | | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 |

⁽¹⁾ 4-CPA = ácido 4-clorofenóxiacético; ⁽²⁾ 2,4-D = ácido 2,4-diclorofenóxiacético; ⁽³⁾ ABA = ácido abscísico; ⁽⁴⁾ GA₃ = ácido giberélico; ⁽⁵⁾ ± 2 °C.

Segmentos de folha cotiledonar com aproximadamente 0,5 cm foram inoculados em tubo de ensaio (22 x 150 mm) contendo 10 mL de meio de indução (MI) (DETONI, 2013). Foram utilizadas 10 repetições com um explante por tubo de ensaio. Após 60 dias foram avaliadas as frequências relativas de calogênese (formação de calos friáveis), e de embriogênese (presença de calos embriogênicos).

Após 60 dias, aproximadamente 0,15 g de calos friáveis provenientes dos tratamentos de indução (MI), apresentando ou não embriões somáticos, foram transferidos para meio de maturação (MM) (DETONI, 2013). Foram utilizadas 10 repetições com um explante por tubo de ensaio. Após 120 dias, foram avaliadas as frequências relativas de embriogênese, e o número médio de embriões somáticos por calo.

Após 120 dias, os calos friáveis contendo embriões somáticos (0,005 g) provenientes dos tratamentos do meio de indução (MI) e do meio de maturação (MM), foram transferidos para meio de germinação (MG) (ABREU, 2010; DETONI, 2013; KOEHLER et al., 2013). Foram utilizadas 10 repetições com cinco explantes por placa de Petri. Após 150 e 180 dias foram avaliadas as frequências relativas de plântulas normais e anormais e de organogênese (emissão de raízes).

Após 180 dias, as plântulas normais e anormais foram transferidas para o meio de crescimento (MC), onde permaneceram por 210 dias, para então serem submetidas à aclimação.

Embriogênese somática a partir de plantas hermafroditas: plantas com aproximadamente seis meses, por ocasião da fase reprodutiva, foram identificadas quanto ao sexo, sendo realizada a indução de brotos laterais das plantas hermafroditas (GIAMPAN et al., 2005), a fim de fornecer explantes para a indução da embriogênese somática a partir de plantas hermafroditas (folhas jovens dos brotos laterais).

Foi realizada a coleta de folhas jovens, as quais foram dispostas em bandejas plásticas e tratadas com solução fungicida (1 g L⁻¹ de Acrobat[®] + 10 mL L⁻¹ de Assist[®]), permanecendo envoltas em saco plástico preto por 24 h. Em seguida, as folhas foram lavadas em água e detergente neutro, enxaguadas em água corrente e imersas em água destilada por 2 h. Em câmara de fluxo, foi feita assepsia em álcool 70% por 20 segundos, hipoclorito de sódio 1,5%

por 20 minutos, e enxágue em água destilada autoclavada por quatro vezes (KOEHLER et al., 2013, com modificações).

Foram retiradas as margens e as nervuras e seccionados explantes de 0,5 cm, os quais foram dispostos com a face abaxial em contato com o meio de cultura, em placas de Petri plásticas descartáveis e estéreis (60 x 15 mm), contendo 10 mL de meio de cultura.

Foram estabelecidos três tratamentos de indução (MI), com 15 repetições e quatro explantes por placa, e quatro tratamentos de maturação (MM), com 13 repetições e um explante por placa. Posteriormente, o material foi transferido para os meios de germinação (MG) e de crescimento (MC). Os tratamentos consistiram em meio MS, completo ou meia força, com diferentes suplementações, concentrações de reguladores e condições ambientais, conforme Tabela 2.

Tabela 2. Componentes do meio de cultura de indução (MI), maturação (MM), germinação (MG) e crescimento (MC), e condição de cultivo durante a embriogênese somática a partir de plantas hermafroditas do mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01

| Componentes do meio de cultura | | MI | | | | | | MM | | | MG | MR |
|---|----------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Tempo (dias) | | 0 | 30 | 60 | 90 | 120 | 150 | 180 | 210 | 240 | 270 | 300 |
| Sais MS | T1/T2 ⁽¹⁾ | | | | | | | 4,30 | 4,30 | 4,30 | | |
| Sigma [®] (g L ⁻¹) | T3/T4 | 2,15 | 2,15 | 2,15 | 2,15 | 2,15 | 2,15 | 2,15 | 2,15 | 2,15 | 2,15 | 4,30 |
| Glutamina (mg L ⁻¹) | | 400 | 400 | 400 | 400 | 400 | 400 | 400 | 400 | 400 | 400 | 400 |
| Mio-inositol (mg L ⁻¹) | | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Vitaminas (mL L ⁻¹) | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Sacarose (g L ⁻¹) | | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| Fitagel (g L ⁻¹) | | 2,8 | 2,8 | 2,8 | 2,8 | 2,8 | 2,8 | 2,8 | 2,8 | 2,8 | 2,8 | - |
| 2,4-D ⁽³⁾ (µM) | T1 ⁽²⁾ | 9,0 | 4,5 | 2,25 | 1,13 | 0,56 | 0,28 | - | - | - | - | - |
| | T2 | 36 | 18 | 9,0 | 4,5 | 2,25 | 1,12 | - | - | - | - | - |
| | T3 | 48 | 24 | 12 | 6,0 | 3,0 | 1,5 | - | - | - | - | - |
| Luz | | - | - | - | - | - | - | sim | sim | sim | sim | sim |
| ABA ⁽⁴⁾ (µM) | T1/T3 ⁽¹⁾ | | | | | | | 0,5 | 0,5 | 0,5 | | |
| | T2/T4 | | | | | | | 5 | 5 | 5 | | |
| Carvão ativado (mg L ⁻¹) | | - | - | - | - | - | - | 15 | 15 | 15 | - | - |
| GA ₃ ⁽⁵⁾ (µM) | | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,5 | - |
| Vermiculita | | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | sim |
| Temperatura ⁽⁶⁾ (°C) | | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 | 27 |

⁽¹⁾ Tratamentos referentes aos meios de maturação; ⁽²⁾ Tratamentos referentes aos meios de indução; ⁽³⁾ 2,4-D = ácido 2,4-diclorofenóxiacético; ⁽⁴⁾ ABA = ácido abscísico; ⁽⁵⁾ GA₃ = ácido giberélico; ⁽⁶⁾ ± 2 °C.

Durante a indução, a cada 30 dias, os explantes foram transferidos para os meios com redução das concentrações de 2,4-D (Tabela 2). Após 90 e 150 dias foram avaliadas as frequências relativas de calogênese, de oxidação do explante, e de embriogênese.

Após 150 dias, os calos friáveis foram transferidos para meio de maturação (MM), em quatro diferentes tratamentos (Tabela 2), onde permaneceram por mais 90 dias. Após 180 e 240 dias, foram avaliadas as frequências relativas de embriogênese e de organogênese, número médio de embriões somáticos por calo, e a fase de desenvolvimento do embrião.

Após 240 dias, os calos contendo embriões foram transferidos para o meio de germinação (MG) por 30 dias. Após 270 dias, os embriões nas diferentes fases de

desenvolvimento foram transferidos para meio de crescimento por 30 dias, totalizando 300 dias de cultivo *in vitro* (Tabela 2).

Registro fotográfico e caracterização ultraestrutural: foi realizado o registro fotográfico, utilizando-se lupa com câmera acoplada, e software Motic Images Plus 2.0, durante as fases de indução, maturação e germinação dos embriões somáticos, e de formação de plântulas.

Após 300 dias de cultivo, no experimento de embriogênese somática a partir de plantas hermafroditas, foi realizada a caracterização ultraestrutural dos explantes oxidados, calos friáveis e calos embriogênicos contendo embriões nas diferentes fases de desenvolvimento. A fixação foi feita em solução Karnovsky (glutaraldeído [2,5%] e paraformaldeído [4,0%] em tampão fosfato de potássio monobásico 0,1 M [pH 7,2], mais 5 mM de cloreto de cálcio) (KARNOVSKY, 1965).

As amostras fixadas foram desidratadas em série etílica até álcool absoluto e submetidas à secagem em ponto crítico com CO₂ (Autosamdri 815, Tousimis[®]), colocadas em “stubs” e submetidas à deposição metálica com ouro, pelo processo de pulverização catódica (Desk V, Denton Vacuum[®]). A análise e a fotodocumentação foram conduzidas utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura (JSM – 6610LV, Jeol[®]) e todas as imagens foram digitalmente processadas. As análises foram feitas no Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins da Universidade Federal do Espírito Santo.

Delineamento e análise estatística: foi adotado o delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os dados foram submetidos à estatística descritiva e, na impossibilidade de realizar análise estatística paramétrica sob os dados quantitativos (regressão), as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$) sendo utilizado o programa R (THE R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING PLATAFORM, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Embriogênese somática a partir de explantes juvenis

Na indução da embriogênese a partir de explantes juvenis, todos os tratamentos apresentaram a formação de calos friáveis, à exceção do controle (Figura 1A, C). Após 60 dias, os tratamentos T3 e T7 (com 36 μM de 4-CPA e de 2,4-D, respectivamente) apresentaram maior frequência (1,0) de calogênese (Figura 2A). Foi observada a presença de calos embriogênicos (Figura 1D), à exceção do T0 (controle) e do T1 (12 μM de 4-CPA) (Figura 2A).

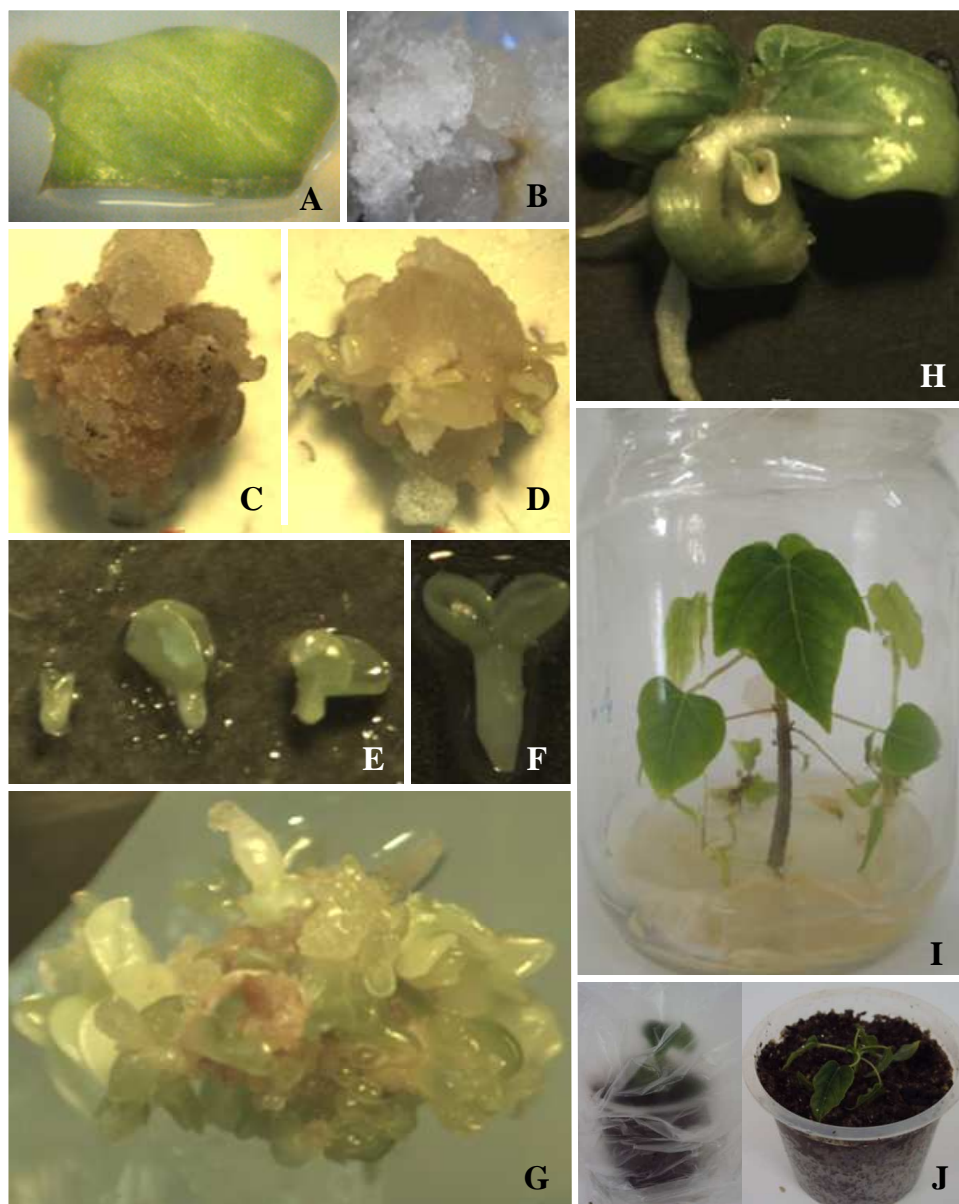


Figura 1. Embriogênese somática a partir de folhas cotiledonares de plântulas germinadas *in vitro* de *C. papaya*, híbrido UENF/Caliman 01. A – explante de folha cotiledonar sem reposta após 30 dias (T0 – controle); B – calo não embriogênico após 30 dias (T3 - 24 μ M de 4-CPA); C - calos friáveis após 120 dias, apresentando oxidação (T1- 12 μ M de 4-CPA); D – calos embriogênicos após 60 dias (T7 - 36 μ M de 2,4-D), apresentando embriões em diferentes estádios de desenvolvimento; E - embriões somáticos formados após 120 dias (T7 - 36 μ M de 2,4-D); F - embrião somático cotiledonar após 180 dias (T8 – 48 μ M de 2,4-D); G - calo embriogênico após 180 dias (T7 - 36 μ M de 2,4-D), apresentando embriões em diferentes

estádios de desenvolvimento; H - plântula anormal após 180 dias (T4 - 48 μ M de 4-CPA); I - plântula normal formada a partir de embriões somáticos obtidos a partir de folhas cotiledonares de plântulas germinadas *in vitro*, após 210 dias (T8 - 48 μ M de 2,4-D); J - plântula normal durante a aclimação, após 240 dias.

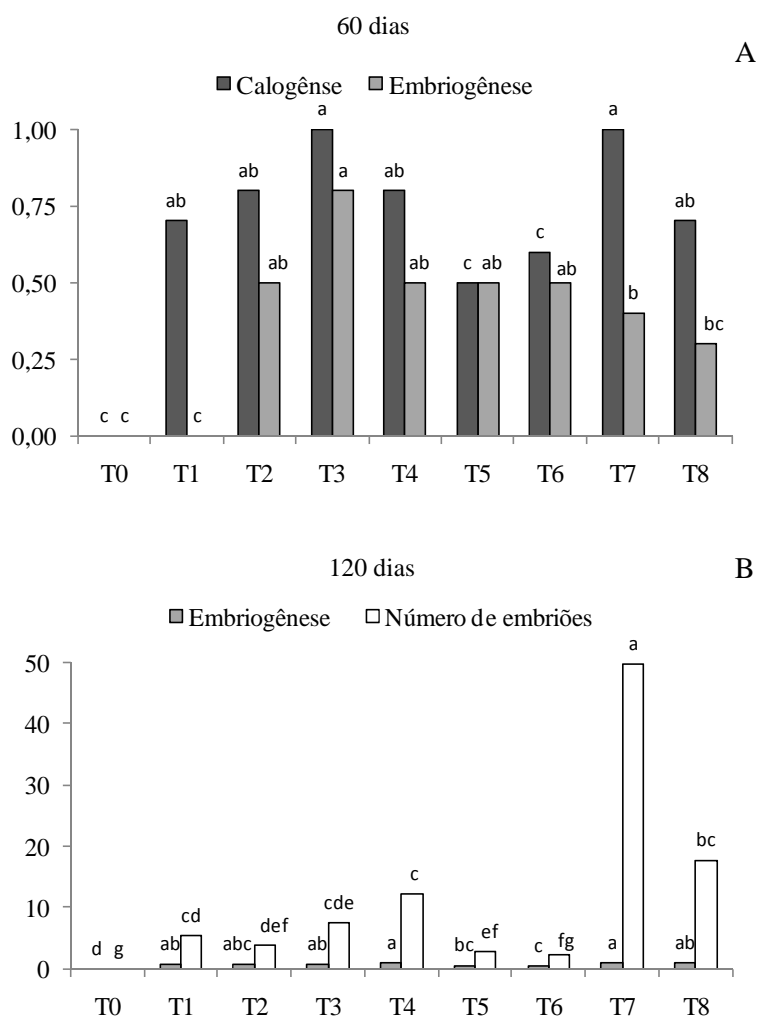


Figura 2. Frequências relativas de calogênese, embriogênese e número médio de embriões somáticos calo^{-1} , nos diferentes tratamentos de indução, após 60 (A) e 120 dias (B). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$). T0 – controle; T1 – 12 μ M de 4-CPA; T2 – 24 μ M de 4-CPA; T3 – 36 μ M de 4-CPA; T4 – 48 μ M de 4-CPA; T5 – 12 μ M de 2,4-D; T6 – 24 μ M de 2,4-D; T7 – 36 μ M de 2,4-D; T8 – 48 μ M de 2,4-D.

A indução sob concentrações $\geq 24 \mu\text{M}$ de 4-CPA e $\geq 12 \mu\text{M}$ de 2,4-D promoveu a embriogênese (Figura 2 A e B). Em geral, o processo de iniciação da embriogênese somática em mamoeiro é dependente do cultivo do explante inicial em meio com concentração relativamente elevada de auxina.

Maior indução de embriões somáticos para as cvs. Co-5, Pusa Dwarf e Wahington foi observada com concentrações entre 1 e 2 mg L⁻¹ (entre 5,37 e 10,74 μM , respectivamente) de ANA (SAHA et al., 2004). Para cv. Rathna, a indução de embriões somáticos foi obtida com 3 mg L⁻¹ (16,11 μM) de ácido naftalenoacético (ANA), ou 1 mg L⁻¹ (4,52 μM) de 2,4-D (FARZANA et al., 2008). Malabadi et al. (2011) induziram a embriogênese somática com 2,27 μM de thidiazuron (TDZ) e 4,52 μM de 2,4-D para as variedades Coorg, Honey Dew, Washigton, Honey Dew, Pusa Delicious, Pusa Nanha, Taiwan 786 e 785, Sunrise Solo, Co-1, Co-7 e Co-3. Para a cv. Co7 foi obtida a embriogênese somática com 2,0 mg L⁻¹ (9,05 μM) de 2,4-D (ANANDAN et al., 2012). Em mamoeiro cv. Golden, maior indução de calos embriogênicos foi obtida com 9,05 μM de 2,4-D (ABREU, 2010). Para cv. Golden THB, a máxima indução de embriões somáticos foi obtida com a concentração de 25 μM de 4-CPA (DETONI et al., 2013).

Heringer et al. (2013) e Vale et al. (2014), utilizando embrião zigótico imaturo do mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01 como explante inicial, observaram maior taxa de calogênese na ausência de 2,4-D. No entanto, os calos produzidos neste tratamento exibiram características não-embriogênicas (não friáveis), com aspecto compacto e coloração branca translúcida. Estes autores verificaram maiores taxas de embriogênese em meio suplementado com 20 μM de 2,4-D.

Após 120 dias (60 dias após a transferência para o meio de maturação), os tratamentos T4 (48 μM de 4-CPA) e T7 (36 μM de 2,4-D) apresentaram frequência de 1,0 de

embriogênese, sendo que o T7 apresentou maior número médio de embriões somáticos por calo (46,7) (Figura 2B).

Para Heringer et al. (2013), que utilizaram embriões zigóticos imaturos como explante inicial, a presença de embriões somáticos de mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01 foi observada entre 20 e 25 dias após o início da indução, uma resposta rápida comparada ao presente estudo, que utilizou segmentos de folhas de plantas hermafroditas como explante inicial, no qual foram observados embriões após 12 semanas.

Para outras cultivares de mamoeiro, a formação de embriões somáticos a partir de embriões zigóticos imaturos também foi mais demorada: Farzana et al. (2008) observaram a formação de embriões somáticos após 10 semanas de indução para cv. Rathna; Malabadi et al. (2011) observaram a presença de embriões somáticos após cerca de oito semanas, em 12 cultivares de mamoeiro avaliados.

Após 150 dias (90 dias após a transferência para o meio de maturação), somente os tratamentos T4 (48 μ M de 4-CPA) e T8 (48 μ M de 2,4-D) apresentaram plântulas normais, sendo que o T8 se destaca por apresentar frequência relativa de plântulas normais de 0,08 após 150 dias, e de 0,16 após 180 dias (Figura 3). Observou-se rizogênese indireta nos calos formados nos tratamentos com concentração de auxina \leq 24 μ M (T2, T3, T4, T6, T7 e T8) (Figura 3A).

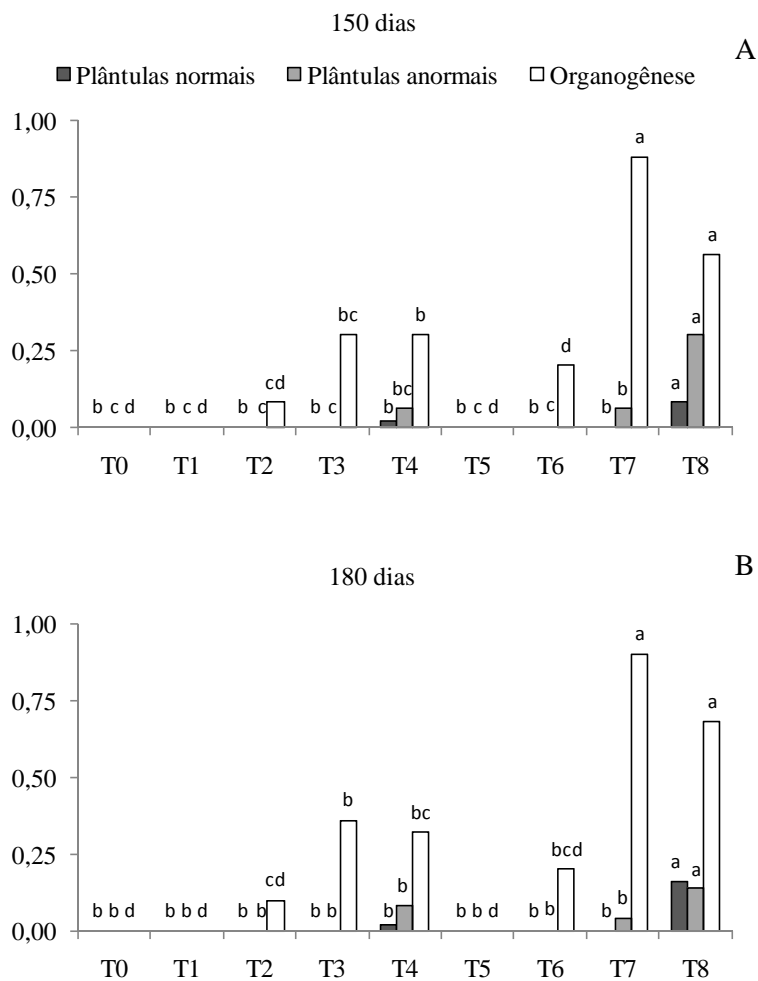


Figura 3. Frequências relativas de plântulas normais e anormais e de organogênese, nos diferentes tratamentos de indução, após 150 (A) e 180 dias (B). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$). T0 – controle; T1 – 12 μM de 4-CPA; T2 – 24 μM de 4-CPA; T3 – 36 μM de 4-CPA; T4 – 48 μM de 4-CPA; T5 – 12 μM de 2,4-D; T6 – 24 μM de 2,4-D; T7 – 36 μM de 2,4-D; T8 – 48 μM de 2,4-D.

Após 180 dias (30 dias após a transferência para o meio de germinação) foi observada a formação de plântulas anormais nos tratamentos T4 (48 μM de 4-CPA), T7 (36 μM de 2,4-D) e T8 (48 μM de 2,4-D), em frequência relativa de 0,08, 0,04 e 0,14, respectivamente (Figura 1H).

O progresso do desenvolvimento dos embriões somáticos ocorre após a transferência do calo ou suspensão celular para o meio isento ou com baixa concentração de auxinas, devido às auxinas inibirem o desenvolvimento subsequente dos embriões. Além disso, a manutenção prolongada das culturas embriogênicas em meio com 2,4-D pode causar variações genéticas e epigenéticas, perda do potencial de maturação e de conversão do embrião em planta (GUERRA et al., 2006). De acordo com os resultados observados neste estudo, ainda que transferidos para meio de cultura isento de auxina após 60 dias (meio de maturação e de germinação), a elevada concentração de auxina do meio de indução (MI), embora eficiente para formação de calos friáveis e embriogênicos, também induziu à anormalidade das plântulas e à rizogênese indireta (Figura 3B).

Ao promover a embriogênese somática a partir de folhas cotiledonares do mamoeiro cv. Golden THB foi observada a presença de embriões anormais, além da falta de sincronização na formação de embriões somáticos, a qual foi relacionada à ocorrência de embriogênese secundária. Ainda, evidenciou que o sucesso da conversão de embriões somáticos em plântulas está diretamente relacionado à qualidade do processo de maturação, bem como à morfologia dos embriões (DETONI, 2013; CHAGAS, 2014).

Informações sobre a histologia e a morfologia de embriões somáticos também podem auxiliar na compreensão das anormalidades e manipulação do processo de embriogênese (BUKHORI et al., 2013; DETONI, 2013). Bukhori et al. (2013) observaram que os embriões somáticos surgem a partir de um grupo de células meristemáticas pré-embriônicas que se desenvolvem em embriões globulares, para os quais a análise histológica evidencia células pequenas com conteúdo citoplasmático denso, núcleo grande com nucléolos proeminentes, e ausência de vacúolos. Nessa fase os embriões somáticos apresentam polos apicais (parte aérea) e basais (raiz), rodeados por camadas distintas de protoderme. O embrião globular apresenta alongamento e evolui para a fase cordiforme, com células altamente compactas. Na

fase subsequente, de torpedo, observa-se a formação de tecido vascular (xilema e floema), com o desenvolvimento dos primórdios foliares, chegando na fase cotiledonar.

De acordo com Vale et al. (2014), secções histológicas de embriões somáticos de mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01 revelaram que o sucesso na maturação dos embriões tem relação com calos que apresentaram mais células com características embriogênicas, ou seja, células pequenas, isodiamétricas, com citoplasma denso e grande núcleo, organizadas em agregados meristemáticos.

Ao longo de cinco meses em meio de indução embriogênica, Koehler et al. (2013) observaram embriões somáticos de mamoeiro em estádios de desenvolvimento distintos, evidenciando um processo de embriogênese somática assincrônico. Após a germinação dos embriões somáticos *in vitro*, as plântulas apresentaram 12% de anormalidade, com folhas e raízes hiperhídricas, formação de calos, espessamento de hipocótilo e/ou ausência de meristema apical.

Plântulas anormais obtidas por embriogênese somática em mamoeiro, usando embriões zigóticos como explante inicial, também foram observadas por Clarindo et al. (2008), sendo que a avaliação do nível de ploidia do DNA das plântulas evidenciou a ocorrência de variação somaclonal. Bukhori et al. (2013), embora tenham observado germinação sincrônica de embriões somáticos de mamoeiro cv. Eksotika, verificaram a presença de embriões somáticos anormais, com cotilédones mal-formados.

As plantas clonadas podem diferir das plantas matrizes, a considerar que durante a propagação *in vitro* podem ocorrer alterações genéticas, como poliploidização, aneuploidias, mutações, que são irreversíveis e herdáveis; e epigenéticas, ou seja, mudanças de longa duração na expressão da informação do genoma, que podem ou não ser revertidas. As variações epigenéticas, tais como a metilação do DNA, ou seja, a agregação de grupos metila, e a metilação ou a acetilação (adição de grupos acetila) de histonas, eventos estes que podem

alterar a expressão de genes, podem ter relação com o estresse imposto durante a indução da embriogênese somática (SMULDERS; KLERK, 2011).

Deve-se considerar que a cultura *in vitro* impõe condições muito artificiais: as plantas sofrem excisão de explantes, recebem carboidratos em uma condição fisiológica heterotrófica, doses elevadas de reguladores de crescimento, e sofrem alteração no balanço hídrico. A identificação de quais fatores no cultivo *in vitro* são estressantes pode levar a procedimentos que resultam em uma redução da variação epigenética. No entanto, existe uma lacuna quanto ao entendimento da base molecular da formação dos variantes epigenéticos, a qual é imprescindível para o progresso no desenvolvimento de protocolos para evitar ou neutralizar essas anomalias (SMULDERS; KLERK, 2011).

Neste sentido, um estudo recente investigou a proteômica durante a maturação de embriões somáticos em mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01. Foi verificado que o uso de agente osmótico (polietilenoglicol) durante a embriogênese somática tardia, além de aumentar o número de embriões somáticos formados, confere uma expressão diferencial do perfil de proteínas, em especial de enolase (proteína relacionada ao metabolismo energético e dos carboidratos), esterases (metabolismo dos ácidos graxos) e álcool desidrogenase 3 (processo de oxidação/redução). Estas proteínas podem desempenhar um papel importante no processo de amadurecimento de embriões somáticos do mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01. Assim, a identificação da sua expressão diferencial durante o processo pode contribuir para o entendimento das diferentes respostas biológicas, inclusive de má-formação dos embriões somáticos, que pode estar associada a problemas durante a fase de maturação (VALE et al., 2014).

No presente trabalho, os tratamentos mais eficientes para a indução da embriogênese somática foram o T4 (48 μM de 4-CPA), o T7 (36 μM de 2,4-D) e o T8 (48 μM de 2,4-D), os quais também levaram à formação de plântulas anormais (Figuras 2 e 3).

O 2,4-D desempenha um papel fundamental na indução de culturas embriogênicas de mamoeiro devido aos efeitos na divisão e na diferenciação celular, e na modulação de padrões de metilação do DNA (variações epigenéticas) (FEHÉR et al., 2003; SMULDERS; KLERK 2011). No entanto, as auxinas sintéticas (assim como o 2,4-D e o 4-CPA) podem estar relacionadas com distúrbios fisiológicos durante e após o processo de embriogênese somática, com propriedade de alterar o transporte polar de auxinas endógenas e impedir o estabelecimento da polaridade do eixo embrionário (GAJ, 2004); causar distúrbios epigenéticos (expressão gênica) (WÓJCIKOWSKA et al., 2013) e genéticos, como variações somaclonais (poliploidias e aneuploidias), decorrentes de efeito teratogênico destas substâncias (TREMBLAY et al., 1999; CLARINDO et al., 2008; CURRAIS et al., 2013).

Assim, para reduzir as anormalidades, sugere-se o tratamento de pulso de auxina (PESCADOR et al., 2008; MENGARDA et al., 2009), a utilização de concentração mais baixa de auxina no meio de cultura ou a redução gradual da concentração (PESCADOR et al., 2008; MENGARDA et al., 2009; KOEHLER et al., 2013), e a indução de estresse osmótico durante a embriogênese somática tardia (HERINGER et al., 2013; VALE et al., 2014).

O tratamento T7 (36 μM de 2,4-D) apresentou maior número médio de embriões somáticos (46,7 embriões calo^{-1}), e o T8 (48 μM de 2,4-D) a maior frequência de plantas normais (0,16), sendo os mais eficientes na indução da embriogênese somática a partir de folhas cotiledonares de plântulas propagadas *in vitro* por sementes. Evidencia-se, portanto, que os resultados deste estudo viabilizam a indução da embriogênese somática de mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01 a partir de explantes juvenis.

Este método apresenta como vantagem a redução expressiva dos custos com a aquisição de sementes. O preço de sementes de mamão híbrido Formosa é de, aproximadamente, U\$ 3 mil kg^{-1} . Logo, a partir do aprimoramento do protocolo para a conversão plena dos embriões somáticos em plântulas normais, considerando o tratamento T7 (36 μM de 2,4-D), que

induziu a formação de 46,7 embriões somáticos calo^{-1} seria possível obter, em média, 93,4 plântulas semente⁻¹ (a partir de duas folhas cotiledonares como explante). Desta forma, haveria uma redução de aproximadamente 90 vezes sobre os custos com a compra de sementes (excluindo os custos dos procedimentos para cultivo *in vitro*).

Além disso, as respostas obtidas levantam informações importantes para a propagação *in vitro* do mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01, podendo ser utilizadas para a indução da embriogênese somática em plantas hermafroditas.

Embriogênese somática a partir de plantas hermafroditas

Na indução de embriogênese somática a partir de plantas hermafroditas, somente o tratamento T1 (partindo de 9 μM de 2,4-D) apresentou a formação de calos friáveis (Figura 4D, E, F). Após 90 dias, 32% dos explantes do T1 apresentaram calogênese (Figura 5A). Observou-se oxidação dos explantes, em especial para os tratamentos T2 e T3 (partindo de 36 e 48 μM de 2,4-D, respectivamente) (Figuras 4C; 5A, B).

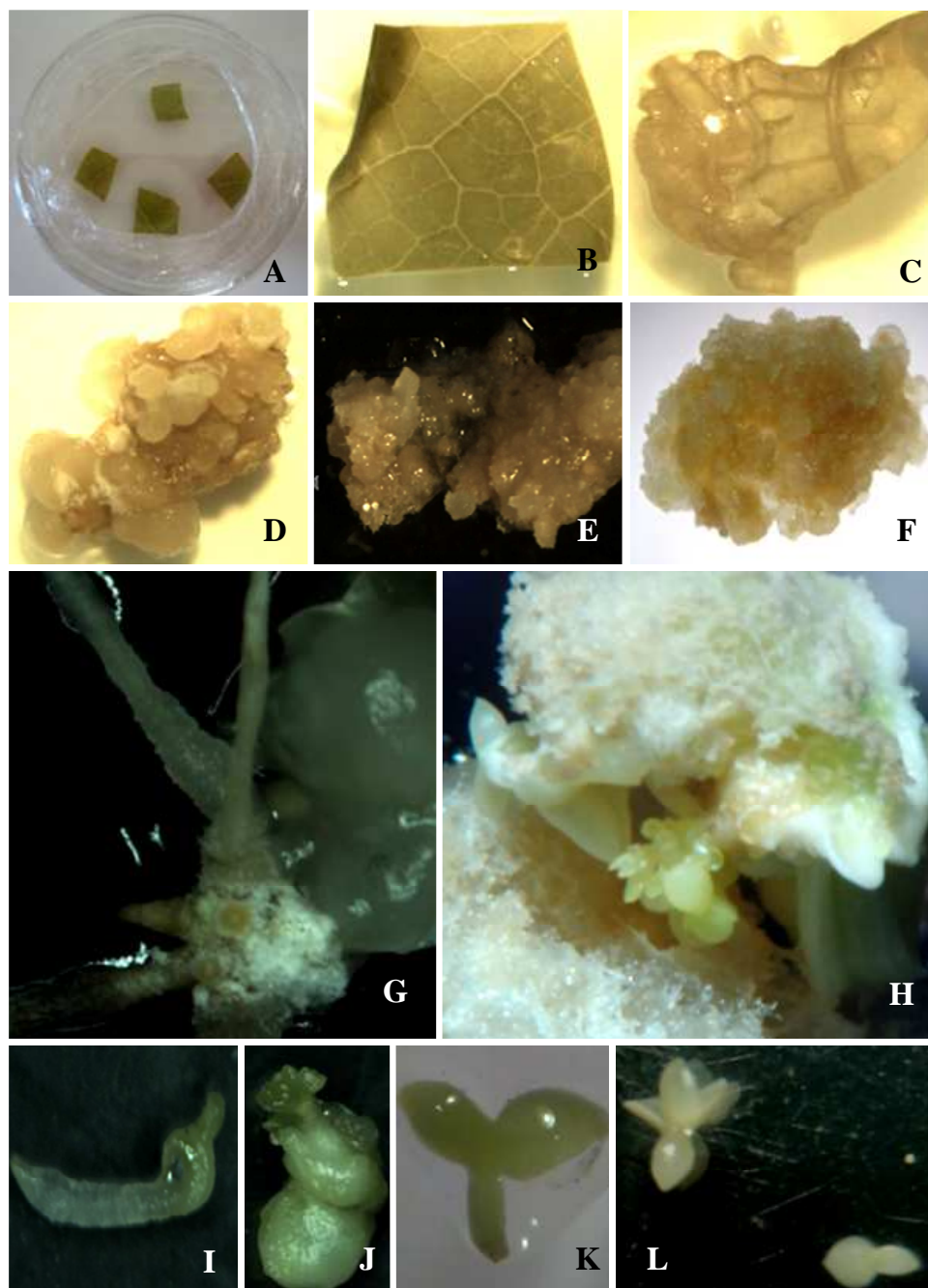


Figura 4. Embriogênese somática a partir de plantas hermafroditas de *C. papaya*, híbrido UENF/Caliman 01. Explantes de folha jovem de planta hermafrodita, sem resposta após 30 dias no meio de indução (T2 - 36-18-9 μM de 2,4-D); B – explante sem resposta após 90 dias no meio de indução (T2); C - explante oxidado após 90 dias no meio de indução (T3 – 48-24-12 μM de 2,4-D); D – calo friável após 30 dias no meio de indução (T1 – 9-4,5-2,25 μM de 2,4-D); E – calo embriogênico no meio de maturação, após 180 dias (T1 - MS + 0,5 μM de

ABA); F – calo embriogênico em meio de germinação, após 270 dias; G – organogênese indireta, formação de raízes a partir dos calos, observada após 180 dias; H – calo embriogênico contendo embriões em diferentes estádios de desenvolvimento; I – embrião somático anormal; J – tecido apresentando embriogênese secundária, com embriões na fase cordiforme; K – embrião somático cotiledonar; L – embriões somáticos na fase torpedo e cotiledonar, obtidos a partir de folhas de plantas hermafroditas de mamoeiro, após 270 dias.

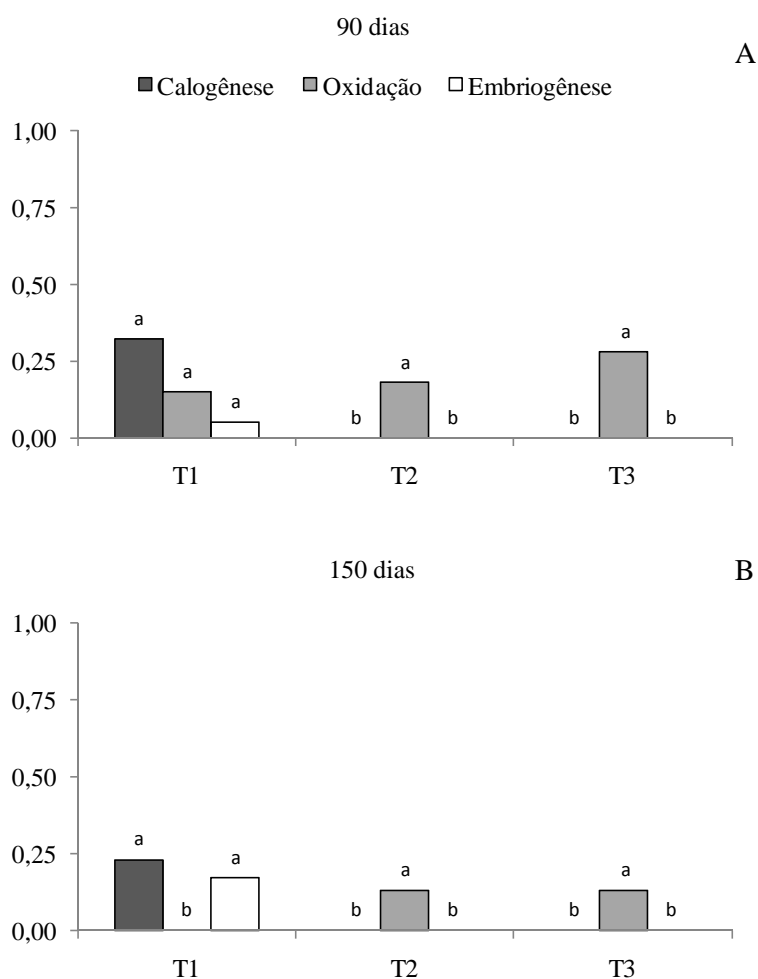


Figura 5. Frequências relativas de calogênese, oxidação e embriogênese, nos diferentes tratamentos de indução, após 90 (A) e 150 dias (B). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$). T1- 9-4,5-2,25 μM de 2,4-D; T2- 36-18-9 μM de 2,4-D; T3- 48-24-12 μM de 2,4-D;

Ao utilizar segmentos de plantas adultas como explantes, a indução da embriogênese somática só ocorreu no tratamento com 9 μM de 2,4-D (T1) (Figuras 4H, I, J, K e L; 5A, B). Ainda assim, a taxa máxima de calogênese e de embriogênese foi de 32% e 17%, respectivamente (Figura 5A, B), diferente dos resultados obtidos no experimento anterior, em que as concentrações de 36 e 48 μM de 2,4-D foram mais eficientes na indução de embriões somáticos a partir de folhas cotiledonares (taxas máximas de 100% de calogênese, 100% de embriogênese e de 46,7 embriões calo^{-1}).

O número de embriões somáticos obtidos foi muito reduzido (1,62 embriões calo^{-1}) (Figura 6B), 96,53% menor considerando-se o uso de folhas cotiledonares como explante inicial.

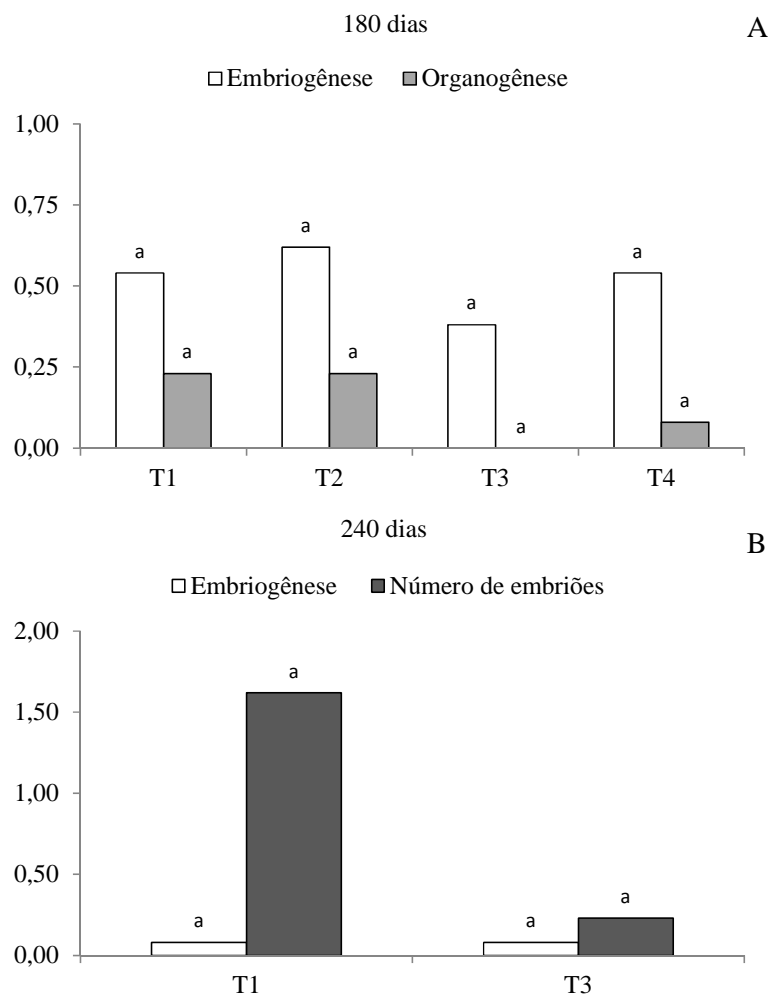


Figura 6. Frequências relativas de embriogênese, organogênese e número médio de embriões somáticos nos diferentes tratamentos de maturação, após 180 (A) e 240 dias (B). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$). T1- MS + 0,5 μ M de ABA; T2- MS + 5 μ M de ABA; T3- $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 μ M de ABA; T4- $\frac{1}{2}$ MS + 5 μ M de ABA.

Estes resultados evidenciam a questão da resposta diferencial quanto ao explante utilizado para a embriogênese somática. Cada parte do vegetal, em determinado estágio fisiológico de desenvolvimento, apresenta uma constituição morfoanatômica específica, conteúdo endógeno de hormônios e de compostos secundários (como fenóis), que podem interferir na resposta durante o cultivo *in vitro* (GAJ, 2004). Os fenóis são compostos

associados à oxidação dos explantes, conforme respostas observadas no presente estudo para os tratamentos T2 e T3.

Farzana et al. (2008) obtiveram 20% de indução de calos a partir de segmentos de folhas jovens de mamoeiro cv. Rathna obtidos *ex vitro*. No entanto, os calos apresentaram oxidação e crescimento muito lento comparado aos calos formados a partir de folhas cotiledonares. Além disso, observou-se diferença significativa entre o estágio de maturação das folhas jovens: as folhas apicais (imaturas) produziram mais calos do que as folhas maduras. Assim, observa-se que a resposta à embriogênese somática em mamoeiro é influenciada pela natureza do explante.

Segmentos de plântulas germinadas *in vitro* são ótimas fontes de explantes, devido à juvenildade, o que possibilita maior atividade morfogenética dos tecidos (HU; FERREIRA, 1998), enquanto tecidos maduros de mamoeiro podem ter um efeito inibitório sobre a capacidade dos tecidos meristemáticos formarem calos embriogênicos (FARZANA et al., 2008).

O processo de transição entre células somáticas e embriogênicas sofre influência expressiva dos reguladores de crescimento e hormônios vegetais, e do estresse imposto pelas condições *in vitro* (FEHÉR et al., 2003). Logo, o sucesso da embriogênese somática depende do balanço entre o nível de estresse imposto e o estado fisiológico das células do explante. Diferentes células, dos diferentes tecidos da planta, podem produzir quantidades substancialmente diferentes de auxina endógena, sendo que alguns explantes nem necessitam da adição exógena de reguladores. Portanto, a resposta quanto à concentração de auxina na indução da embriogênese somática pode ser considerada genótipo/explante específica (FEHÉR et al., 2003).

Com o uso de embriões zigóticos imaturos de mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01, observou-se uma taxa de 46,7% de indução da embriogênese (HERINGER et al., 2013). Em

mamoeiro cv. Golden THB, o uso de folhas cotiledonares como explantes permitiu 62% de embriogênese somática, com número médio de 18,15 embriões somáticos calo⁻¹ (DETONI, 2013). Foi observada calogênese a partir de segmentos de folhas de plantas hermafroditas de mamoeiro, sendo que 74% dos explantes apresentaram calos embriogênicos friáveis (KOEHLER et al., 2013).

Após a transferência dos calos para os diferentes meios de maturação, em que foi avaliado o efeito de diferentes concentrações de ácido abscísico (ABA) em meio MS e ½ MS, não foram observadas diferenças entre a frequência de embriogênese, de organogênese e o número médio de embriões somáticos após 180 e 240 dias (Figura 6).

Em geral, o ABA influencia no processo de embriogênese somática dos mamoeiros cvs. Co-5, Pusa Dwarf e Wahington (SAHA et al., 2004), cv. Golden (ABREU, 2010) e cv. Golden THB (DETONI, 2013), aumentando a frequência de embriões somáticos produzidos e a sua conversão em plantas (KOEHLER et al., 2013). Neste estudo, a concentração variando entre 0,5 e 5 µM de ABA não interferiu de forma significativa no aumento da frequência de embriogênese após 180 e 240 dias (Figura 6A). Observou-se, contudo, que após 240 dias, embriões somáticos só estavam presentes nos tratamentos com 0,5 µM de ABA, independente do MS completo ou meia força (T1 e T3) (Figura 6B).

Foram observados embriões em diferentes estádios de desenvolvimento (Figura 7C a J). Entre os embriões somáticos formados, 28,6% encontravam-se na fase globular (Figura 7E); 9,5% na fase cordiforme (Figura 7F, J); 19,1% na fase torpedo (Figura 7I); e 42,8% na fase cotiledonar (Figura 7G, H). Também foram observados embriões anormais, principalmente do tipo trombeta (Figura 7K, L).

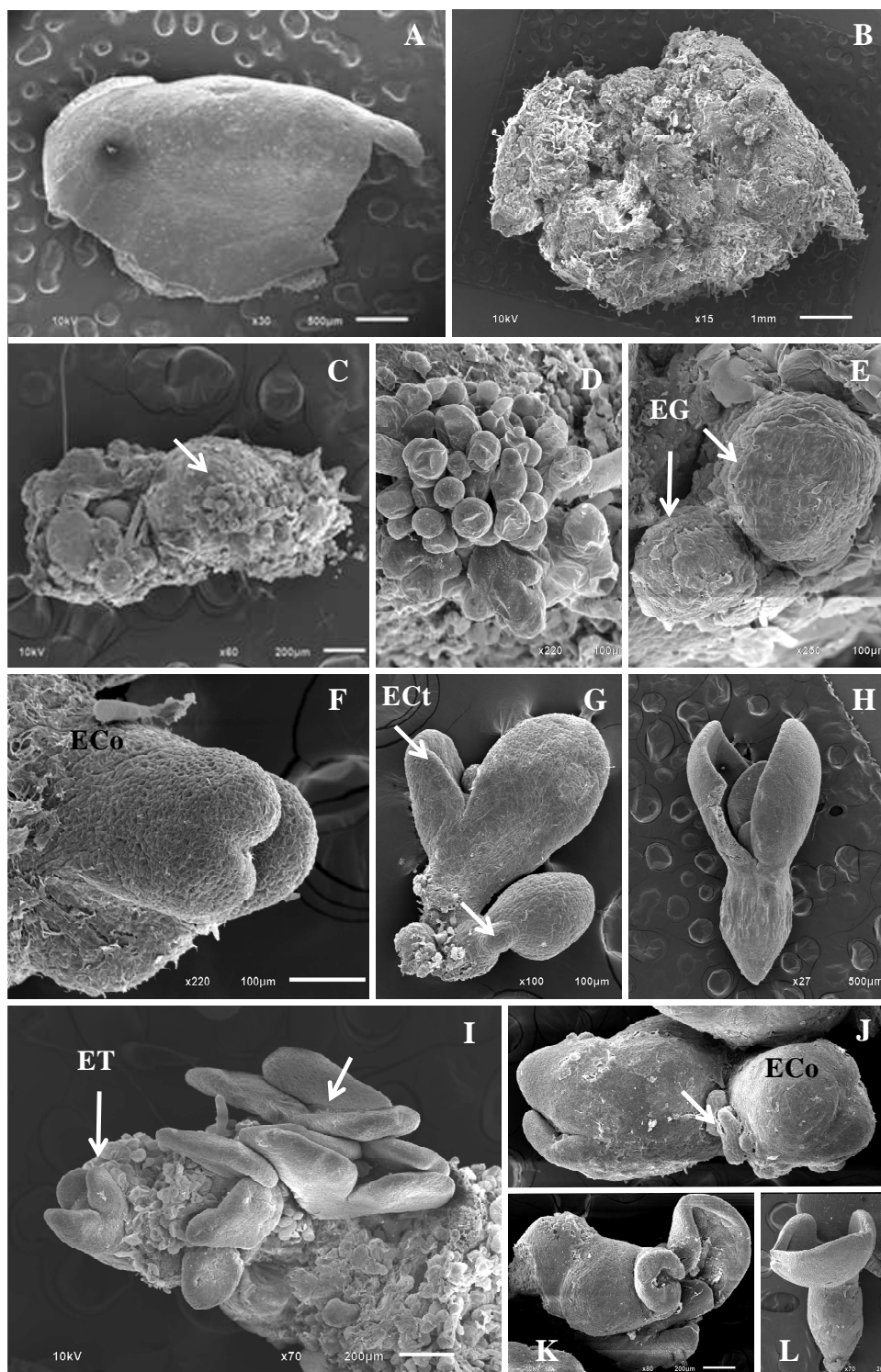


Figura 7. Análise ultraestrutural da embriogênese somática de plantas hermafroditas de *C. papaya* L. híbrido UENF/Caliman 01, após 300 dias. A – explante oxidado observado nos tratamentos de indução T2 (36-18-9 μM de 2,4-D) e T3 (48-24-12 μM de 2,4-D); B - calo não-embriogênico obtido pelo tratamento de indução T1 (9-4,5-2,25 μM de 2,4-D); C - calo

embriogênico observado no tratamento de indução T1, com regiões pré-embriogênicas; D – detalhe da região pré-embriogênica (seta). Embriões somáticos em diferentes estádios de desenvolvimento: E – globular; F - cordiforme tardio; G – cotiledonar e torpedo, com detalhe para estrutura semelhante ao suspensor (seta); H – embrião cotiledonar tardio; I – massa embriogênica contendo embriões anormais (seta), e embrião torpedo tardio; J – embrião anormal, embrião cordiforme inicial, com destaque para a formação da depressão apical, e processo de embriogênese secundária (seta); K e L – embriões somáticos anormais tipo trombeta. Eco = embrião cordiforme; ECt = embrião cotiledonar; EG = embrião globular; ET = embrião torpedo.

A presença de embriões nas diferentes fases de desenvolvimento evidencia um processo de embriogênese somática assíncrono (DETONI, 2013; KOEHLER et al., 2013), com a indução e o desenvolvimento embrionário em diferentes grupos de células e em momentos distintos.

Em mamoeiro, observa-se a predominância do padrão indireto da formação de embriões somáticos. Assim, inicialmente há a formação de calos friáveis, com intensa multiplicação e divisão celular (Figura 7 B e C) para a subsequente formação dos embriões somáticos (CASTILLO et al., 1998; CAI et al., 1999; ALMEIDA et al., 2000; 2001; RENUKDAS et al., 2004; SAHA et al., 2004; ASCENCIO-CABRAL et al., 2008; FARZANA et al., 2008; ABREU, 2010; KUNG et al., 2010; MALABADI et al., 2011; DETONI, 2013). Os calos apresentam células em diferentes estádios de diferenciação e, conseqüentemente, com diferentes graus de determinação, o que induz à maior possibilidade de embriogênese assíncrona.

O processo embriogênico, segundo Durzan (1988), acontece em dois ciclos: repetitivo, que ocorre quase sempre na ausência de luz e sob ação da auxina; e de maturação, que tem

como agentes a luz, as citocininas e os agentes osmóticos, resultando na maturação dos embriões (GUERRA et al., 2006). Sugere-se que a exposição ao 2,4-D na concentração e no tempo utilizados neste estudo pode ter favorecido a manutenção de um ciclo celular repetitivo (GUPTA et al., 1993), resultando no processo de embriogênese somática secundária, que também favorece a formação de embriões anormais (Figura 7 I, J, K, L).

Recentemente, Heringer et al. (2013) e Vale et al. (2014) apresentaram estudos sobre a embriogênese somática do mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01, utilizando embriões zigóticos imaturos como explante inicial. Estes autores discutiram os efeitos da sacarose e do 2,4-D sobre a indução, e do polietilenoglicol sobre a maturação de embriões somáticos, e a relação destes fatores com a expressão de proteínas, gerando informações que conduzem à otimização de protocolos para a embriogênese somática do mamoeiro.

De acordo com Almeida et al. (2001), o estabelecimento de protocolos para a embriogênese somática do mamoeiro é importante por permitir a multiplicação massal de plantas hermafroditas. Nesta espécie, tecidos de plantas adultas usados como explantes para a indução da embriogênese somática podem oferecer uma solução para obtenção de plantas de sexo conhecido (FARZANA et al., 2008).

Desta forma, mesmo com baixa eficiência, assincronia durante o processo, e anormalidade dos embriões e plântulas, as informações geradas neste trabalho são de grande importância para futuros estudos a fim de possibilitar a propagação clonal via embriogênese somática de mamoeiro hermafrodita.

CONCLUSÕES

A partir de explantes juvenis, a suplementação do meio com 36 μM de 2,4-D induz a formação de maior número médio de embriões somáticos (46,7 embriões calo^{-1}). A adição de

48 μM de 2,4-D no meio de cultura promove a maior frequência de plantas normais (entre 16 e 30%).

A partir de plantas hermafroditas do mamoeiro híbrido UENF/Caliman 01, os tratamentos de indução com concentração inicial $\geq 36 \mu\text{M}$ de 2,4-D induzem à menor calogênese e maior oxidação dos explantes. Embriões somáticos (1,62 embriões calo⁻¹) podem ser obtidos em meio com concentração inicial de 9 μM de 2,4-D.

REFERÊNCIAS

ABREU, I. S. **Monitoramento da embriogênese somática em *Carica papaya* L. por técnicas de citogenética e de citometria de fluxo.** Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento), Universidade Federal de Viçosa, 58f. 2010.

ALMEIDA, E. P.; OLIVEIRA, R. P.; DANTAS, J. L. Protocolo para a embriogênese somática do mamoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 10, p. 2017-2024, 2000.

ALMEIDA, E. P.; OLIVEIRA, R. P.; DANTAS, J. L. L. Indução e desenvolvimento de calos e embriões somáticos em mamoeiro. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 1, p. 51-54, 2001.

ANANDAN, R.; SUDHAKAR, D.; BALASUBRAMANIAN, P.; GUTIÉRREZ-MORA, A. *In vitro* somatic embryogenesis from suspension cultures of *Carica papaya* L. **Scientia Horticulturae**, v. 136, p. 43-49, 2012.

ASCENCIO-CABRAL, A.; GUTIÉRREZ-PULIDO, H.; RODRÍGUEZ-GARAY, B.; GUTIÉRREZ-MORA, A. Plant regeneration of *Carica papaya* L. through somatic embryogenesis in response to light quality, gelling agent and phloridzin. **Scientia Horticulturae**, v. 118, p. 155-160, 2008.

BRUIJNE, E. de; LANGHE, E. de; VAN RIJCK, R. Actions of hormones and embryoid formation in callus cultures of *Carica papaya*. **Int Symp Crop Prot, Fytopharmacie en Fytiatrie Rijkslandsbouwhoogeschool Medelingen**, v. 39, p. 637-645, 1974.

BUKHORI, M. F. M.; JIN, C. S.; KHALID, N.; PILLAI, V.; RAHMAN, N. A. Improved protocol for high frequency plant regeneration through somatic embryogenesis in *Carica papaya*. **Research in Biotechnology**, v. 4, n. 5, p. 09-19, 2013.

CAI, W.; GONÇALVES, C.; TENNANT, P.; FERMIN, G.; SOUZA JR., M.; SARINDU, N.; JAN, F.; ZHIU, H.; GONSALVES, D. A protocol for efficient transformation and regeneration of *Carica papaya* L. ***In vitro Cellular & Development Biology Plant***, v. 35, p. 61-69, 1999.

CASTILLO, B.; SMITH, M. A. L.; YADAVA, U. L. Plant regeneration from encapsulated somatic embryos of *Carica papaya* L. ***Plant Cell Reports***, v. 17, p. 172-176, 1998.

CHAGAS, K. **Maturação e germinação de embriões somáticos do mamoeiro ‘Golden THB’**. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical), Universidade Federal do Espírito Santo, 54f. 2014.

CID, L. P. B. **Cultivo *in vitro* de plantas**. Brasília: EMBRAPA, Embrapa Formação Tecnológica, 2010. 303p.

CLARINDO, W. R.; CARVALHO, C. R.; ARAÚJO, F. S.; ABREU, I. S.; OTONI, W. C. Recovering polyploid papaya *in vitro* regenerants as screened by flow cytometry. ***Plant Cell Tissue and Organ Culture***. v. 92, p. 207-214, 2008.

CURRAIS, L.; LOUREIRO, J.; SANTOS, C.; CANHOTO, J. M. Ploidy stability in embryogenic cultures and regenerated plantlets of tamarillo. ***Plant Cell Tissue and Organ Culture***, v. 114, p. 149–159, 2013.

DANTAS, J. L. L.; JUNGHANS, D. T.; LIMA, J. F. de. **Mamão: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. 2 ed. Brasília: EMBRAPA, Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2013. 170p.

DETONI, J. L. **Embriogênese somática em mamoeiro seleção THB**. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical), Universidade Federal do Espírito Santo, 72f. 2013.

DURZAN, D. J. Somatic polyembryogenesis for the multiplication of tree crops. ***Biotechnology and Genetic Engineering Reviews***, v. 6, p. 341-378, 1988.

FARZANA, A. R. F.; PALKADAPALA, K. M. M. N.; MEDDEGODA, P. K.; SAMARAJEWA, P. K.; EESWARA, J. P. Somatic embryogenesis in papaya (*Carica papaya* L. cv. Rathna). ***Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka***, v. 36, n. 1, p. 41-50, 2008.

FEHÉR, A.; PASTERNAK, T. P.; DUDITS, D. Transition of somatic plant cells to an embryogenic state. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 74, p. 201-228, 2003.

GAJ, M. D. Factors influencing somatic embryogenesis induction and regeneration with particular reference to *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. **Plant Growth Regulation**, v. 43, p. 27-47, 2004.

GIAMPAN, J. S.; CERQUEIRA, T. S.; JACOMINO, A. P.; REZENDE, J. A. M.; SASAKI, F. F. Indução de brotos laterais de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 1, p. 185-187, 2005.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O.; STEINMACHER, D. A. **Introdução ao conceito de Biotecnologia**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2006. 41 p.

GUPTA, P. K.; TIMMIS, R.; CARLSON, W. C. Somatic embryogenesis: a possible tool for large-scale propagation of forestry species. In: SOH, W. Y.; LIU J. R.; KOMAMINE, A. (Eds.). **Advances in Developmental Biology and Biotechnology of Higher Plants**. Korea: Korean Society of Plant Tissue Culture, 1993. p. 18-37.

HERINGER, A. S.; VALE, E. de M.; BARROSO, T.; SANTA-CATARINA, C.; SILVEIRA, V. Polyethylene glycol effects on somatic embryogenesis of papaya hybrid UENF/Caliman 01 seeds. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 25, n. 2, p. 116-124, 2013.

HU, C. Y.; FERREIRA, A. G. Cultura de embriões. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Eds.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: Embrapa-CNPQ, 1998. 509p.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v. 27, p. 137-138, 1965.

KOEHLER, A. D.; CARVALHO, C. R.; ABREU, I. S.; CLARINDO, W. R. Somatic embryogenesis from leaf explants of hermaphrodite *Carica papaya*: a new approach for clonal propagation. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 18, p. 2386-2391, 2013.

KUNG, Y.; YU, T.; HUANG, C.; WANG, H.; WANG, S.; YEH, S. Generation of hermaphrodite transgenic papaya lines with virus resistance via transformation of somatic embryos derived from adventitious roots of *in vitro* shoots. **Transgenic Research**, v. 19, p. 621-635, 2010.

MALABADI, R. B.; KUMAR, S. V.; MULGUND, G. S.; NATARAJA, K. Induction of somatic embryogenesis in papaya (*Carica papaya*). **Research in Biotechnology**, v. 2, n. 5, p. 40-55, 2011.

MENGARDA, L. H. G.; PESCADOR, R.; CHU, E. P.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. de C. L. Efeito do frio sobre os carboidratos solúveis em culturas embriogênicas de *Acca sellowiana* O. Berg (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, n. 2, p. 307-317, 2009.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497. 1962.

OLIVEIRA, M. J. V. de.; SCHMILDT, E. R.; AMARAL, J. A. T do; COELHO, R. I.; SCHMILDT, O. Formas de esterilização do GA₃ e reação morfogênica em microestacas de mamoeiro. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 467-471, 2014.

PESCADOR, R.; KERBAUY, G. B.; VIVIANI, D.; KRAUS, J. E. Anomalous somatic embryos in *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 31, p. 155-164, 2008.

RENUKDAS, N.; MOHAN, M. L.; KHUSPE, S. S.; RAWAL, S. K. Influence of boron on somatic embryogenesis on papaya. **Biologia Plantarum**, v. 47, n. 1, p. 129-132, 2004.

SAHA, M.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Somatic embryogenesis in different varieties of *Carica papaya* L. **Journal of Tissue Research**, v. 4, n. 1, p. 143-145, 2004.

SMULDERS, M. J. M.; KLERK, G. J. de. Epigenetics in plant tissue culture. **Plant Growth Regulation**, v. 63, p. 137-146, 2011.

THE R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING PLATAFORM. **R Programan**: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna: Austria, 2014.

TREMBLAY, L.; LEVASSEUR, C.; TREMBLAY, F. M. Frequency of somaclonal variation in plant of black spruce (*Picea mariana*, Pinaceae) and white spuce (*P. glauca*, Pinaceae) derived from somatic embryogenesis and identification of some factors involved in genetic instability. **American Journal of Botany**, v. 86, p. 1373-1381, 1999.

VALE, E. de M.; HERINGER, A. S.; BARROSO, T.; FERREIRA, A. T. da S.; COSTA, M. N. da; PERALES, J. E. A.; SANTA-CATARINA, C.; SILVEIRA, V. Comparative proteomic

analysis of somatic embryo maturation in *Carica papaya* L. **Proteome Science**, v. 12, p. 37-55, 2014.

WÓJCIKOWSKA, B.; JASKÓŁA, K.; GASIOREK, P.; MEUS, M.; NOWAK, K.; GAJ, M. D. *LEAFY COTYLEDON2* (LEC2) promotes embryogenic induction in somatic tissues of *Arabidopsis*, via YUCCA-mediated auxin biosynthesis. **Planta**, v. 238, p. 425–440, 2013.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A proposta deste estudo foi elucidar aspectos fisiológicos e biotecnológicos da propagação do mamoeiro. Foram geradas informações para promover avanços na área de fisiologia e tecnologia de sementes desta espécie, e para a aplicação da análise de sementes como instrumento para análise da diversidade genética de mamoeiro e para a identificação de genótipos superiores, tanto em condições ideais, quanto sob estresses.

A observação do padrão de absorção de água permitiu a identificação das fases da germinação e, com isso, a possibilidade do estudo da mobilização de reservas durante o processo. Verificou-se que o maior potencial de germinação sob alternância de temperatura, assim como a redução do vigor de sementes após o envelhecimento acelerado, têm relação com a mobilização de reservas, em especial dos lipídios e proteínas, compostos de reservas majoritários em sementes de mamão.

Verificou-se que as análises de diversidade e dos parâmetros genéticos com base na avaliação das características físico-químicas e fisiológicas das sementes de mamoeiro são eficientes na caracterização do desempenho inicial de genótipos. Ao caracterizar os estresses luminoso, salino e hídrico durante a germinação, foram geradas informações relevantes para auxiliar na escolha de genótipos (ou de progenitores) de maior desempenho germinativo em condições específicas de fatores ambientais estressantes.

Entre os genótipos avaliados, observou-se que o híbrido UENF/Caliman 01 apresentou maior potencial de germinação e resposta positiva em condições de estresse, em especial sob salinidade e restrição hídrica. Para este genótipo, verificou-se que as sementes F_1 apresentam maior qualidade físico-química e fisiológica. Não foi observada redução do vigor híbrido da geração segregante, sendo que as plantas da geração F_2 apresentam, em média, desempenho

igual ou superior à F₁. Foi verificado, no entanto, maior heterogeneidade entre as plantas da geração F₂.

Conforme esperado, observou-se que qualidade das sementes está associada à maior sobrevivência das plantas em campo. No entanto, a germinação e o vigor de sementes não apresentam relação positiva com as características vegetativas e reprodutivas das plantas.

Além disso, foi investigada a aplicação da embriogênese somática *in vitro* como ferramenta capaz de fixar o genótipo elite. Embora tenha sido evidenciada baixa eficiência, assincronia e anomalias durante o processo, as informações geradas representam grande importância, possibilitando avanços nas pesquisas para a propagação clonal em larga escala, redução de custos com sementes e, em especial, a produção de mudas de mamoeiro hermafroditas.

ANEXO I

EMERGÊNCIA E VIGOR DE MUDAS DE GENÓTIPOS DE MAMOEIRO EM FUNÇÃO DA IRRADIÂNCIA⁸

⁸ *Artigo publicado:*

MENGARDA, L. H. G.; LOPES, J. C.; BUFFON, R. B. Emergência e vigor de mudas de genótipos de mamoeiro em função da irradiância. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44, n. 3, p. 325-333, 2014.

Emergência e vigor de mudas de genótipos de mamoeiro em função da irradiância¹

Liana Hilda Golin Mengarda², José Carlos Lopes², Rafael Breda Buffon²

ABSTRACT

Emergence and vigor of papaya genotypes seedlings according to irradiance

Luminosity influences seed emergence in the initial development of papaya plants, being necessary the identification of the ideal irradiance level for plantule establishment and formation of vigorous seedlings. This study aimed to evaluate the seed emergence and seedlings vigor of four papaya genotypes, under different irradiance levels. *Carica papaya* L. seeds, from the Caliman 01 hybrid, Golden THB, triple hybrid and JS12 x Waimanalo hybrid genotypes, were evaluated under four irradiance levels (60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 130 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 580 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and 1,200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A completely randomized design, in a 4x4 split-plot scheme, with four replications, was used. The emergence percentage and speed index were evaluated. The seedlings were measured at 45 and 120 days after sowing (DAS), concerning root and shoot length and dry matter, being calculated the root/shoot ratio and absolute growth rate at 120 DAS. The full sun affected emergence, while the low irradiance affected seedling growth. The intermediate irradiance (130 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and 580 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) was more suitable to the development of papaya seedlings up to 120 DAS. The Golden THB genotype was more sensitive to high irradiance, while the Caliman 01 and JS12 x Waimanalo hybrids tolerated the full sun condition.

KEY-WORDS: *Carica papaya* L.; shading; seeds vigor.

RESUMO

A luminosidade influencia na emergência de sementes e no desenvolvimento inicial do mamoeiro, sendo necessária a identificação do nível de irradiância ideal para o estabelecimento de plântulas e formação de mudas vigorosas. Objetivou-se estudar a emergência de sementes e o vigor das mudas de quatro genótipos de mamoeiro, em diferentes níveis de irradiância. Foram utilizadas sementes de *Carica papaya* L. dos genótipos híbrido Caliman 01, Golden THB, híbrido triplo e híbrido JS12 x Waimanalo, sob quatro níveis de irradiância (60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 130 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 580 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 1.200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, em esquema de parcelas subdivididas 4x4, com quatro repetições. Foram avaliados a percentagem e o índice de velocidade de emergência. As mudas foram avaliadas aos 45 e 120 dias após a semeadura (DAS), quanto ao comprimento e massa seca da raiz e da parte aérea, sendo calculadas a razão raiz/parte aérea e a taxa de crescimento absoluto, aos 120 DAS. O sol pleno prejudicou a emergência, enquanto a baixa irradiância prejudicou o desenvolvimento das mudas. A irradiância intermediária (130 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 580 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foi mais adequada ao desenvolvimento das mudas de mamoeiro, até os 120 DAS. O genótipo Golden THB foi mais sensível à elevada irradiância, enquanto os híbridos Caliman 01 e JS12 x Waimanalo toleraram a condição de sol pleno.

PALAVRAS-CHAVE: *Carica papaya* L.; sombreamento; vigor de sementes.

INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma planta amplamente cultivada em regiões de clima tropical e encontra, no Brasil, condições climáticas favoráveis à sua exploração econômica e alta produtividade. Por ser uma cultura que necessita de renovação dos pomares entre dois e quatro anos, há grande demanda por mudas, justificando pesquisas sobre novas tecnologias para a melhoria das técnicas de produção de sementes, propagação e produção de mudas (Lima et al. 2007, Serrano & Cattaneo 2010).

C. papaya é uma planta herbácea de grande porte, que apresenta sensibilidade às variações de temperatura, umidade, déficit de pressão de vapor e luminosidade, variações essas que podem afetar os processos fisiológicos (Machado-Filho et al. 2006, Lima et al. 2007, Reis & Campostrini 2008). A otimização dos fatores do ambiente, durante o cultivo, pode propiciar elevações nas taxas fotossintéticas, podendo contribuir para o aumento da produtividade do mamoeiro (Reis & Campostrini 2008). Sabe-se, ainda, que o ambiente de cultivo (luminosidade e temperatura) correlaciona-se com a expressão se-

1. Trabalho recebido em set./2013 e aceito para publicação em set./2014 (nº registro: PAT 26429).

2. Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Produção Vegetal, Alegre, ES, Brasil. E-mails: limengarda@gmail.com, jcufes@bol.com.br, rbredabuffon@gmail.com.

xual do mamoeiro. Baixa luminosidade associada a elevadas temperaturas favorece a formação de flores estaminadas, indesejáveis (Martelleto et al. 2011).

As variações ambientais também atuam durante as fases iniciais do desenvolvimento do mamoeiro, o que sugere o uso de ambientes protegidos na produção de mudas (Araújo et al. 2006, Costa et al. 2010), a fim de proporcionar condições ambientais ideais para a expressão do máximo vigor das sementes.

Trabalhos com sementes de *C. papaya* vêm sendo realizados, a fim de levantar informações para a produção de sementes de qualidade e para a comparação do desempenho entre materiais genéticos (Cardoso et al. 2009). No entanto, o uso de sementes de boa qualidade não garante a produção de mudas, pois a expressão efetiva do vigor da semente pressupõe ótimas condições ambientais, para o estabelecimento das plântulas. O crescimento e o rendimento final de um material genético são o resultado de suas interações com o ambiente, sendo necessária, assim, a identificação das condições ambientais ideais para o estabelecimento de plântulas e formação de mudas vigorosas (Marcos Filho 2005, Campostrini & Glenn 2007).

O estudo das respostas do mamoeiro à ação dos fatores ambientais, como a luminosidade, é importante para minimizar os efeitos indesejados desses sobre os processos fisiológicos, viabilizando novas estratégias de manejo, visando a melhores condições de crescimento e produtividade (Araújo et al. 2006, Lima et al. 2007, Reis & Campostrini 2008, Costa et al. 2010, Martelleto et al. 2011). Além disso, o entendimento das respostas de genótipos aos fatores específicos do ambiente pode contribuir para programas de melhoramento da espécie (Campostrini & Glenn 2007). No entanto, são escassos os estudos que relacionam a luminosidade com a emergência e o desenvolvimento inicial. Em vista disso, objetivou-se caracterizar a qualidade física e a emergência das sementes e o vigor das mudas de quatro genótipos de *Carica papaya* L., em função da irradiância.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, em Alegre (ES) (20°36'13"S, 41°11'05"W e altitude de 271 m), com clima caracterizado por inverno seco e verão chuvoso

e precipitação média anual de 1.200 mm, entre julho e novembro de 2011.

Foram utilizadas sementes de quatro genótipos de *Carica papaya* L., fornecidas pela empresa Caliman Agrícola S/A: híbrido Caliman 01, Golden THB, híbrido triplo e híbrido JS12 x Waimanalo. As sementes foram caracterizadas quanto à qualidade física: umidade (U%), comprimento (mm), diâmetro (mm), peso de mil sementes (g) e número de sementes por kg (S kg⁻¹), segundo Brasil (2009), com modificações.

A semeadura foi feita em tubetes plásticos, com capacidade para 50 mL, contendo substrato comercial (HS hortaliças, Holambra substratos[®]), a 1,5 cm de profundidade. O experimento foi conduzido em esquema de parcelas subdivididas 4x4 (quatro níveis de irradiância x quatro genótipos), com quatro repetições de 25 sementes. O fator irradiância foi obtido com sobreposição de telas sombrite de cor preta (poliolefina) e a irradiância determinada por radiômetro (Light meter LI -250A, LI-COR, USA), sendo observados: 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (três telas sombrite), 130 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (duas telas sombrite), 580 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (uma tela sombrite) e 1.200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (sol pleno).

Foram realizadas duas avaliações do desenvolvimento das plântulas, aos 45 e 120 dias após a semeadura (DAS), utilizando-se quatro repetições de 10 plantas por tratamento. Aos 45 DAS, as mudas que foram mantidas sob experimentação para análise aos 120 DAS foram transplantadas para sacos plásticos (10 cm x 15 cm) contendo o mesmo substrato descrito acima. Durante todo o período de experimentação, foram realizadas irrigações diárias. As variáveis avaliadas foram:

- Emergência (E) - avaliada diariamente, até a estabilização, considerando-se emergidas as plântulas cujos cotilédones encontravam-se acima do substrato;
- Índice de velocidade de emergência (IVE) - conduzido concomitantemente ao teste de emergência, calculado conforme Maguire (1962);
- Diâmetro do coleto (DC) - determinado na base do caule, com o auxílio de paquímetro digital, após 45 e 120 DAS, sendo o resultado expresso em mm;
- Comprimento da raiz (CR) e da parte aérea (CPA) - aos 45 e 120 DAS, avaliaram-se o comprimento de raiz primária e parte aérea das plântulas, com o auxílio de uma folha milimetrada, medindo-se da extremidade da raiz até o coleto (CR) e do coleto à extremidade da parte aérea (CPA), sendo os resultados expressos em cm;

e) Massa seca da raiz (MSR) e da parte aérea (MSPA) - aos 45 e 120 DAS, as plantas foram seccionadas no coleto, raízes e parte aérea, acondicionadas em sacos de papel e mantidas em estufa de circulação forçada de ar, à temperatura de 70°C, até atingirem massa constante (72 horas), sendo pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001 g e os resultados expressos em mg;

f) Taxas de crescimento - a partir das medidas de massa seca realizadas aos 45 (t_1) e 120 (t_2) DAS, foram calculadas a razão entre massa de raiz e parte aérea (R:PA) e a taxa de crescimento absoluto (TCA = $M_2 - M_1 / t_2 - t_1$), conforme descrito por Hunt (1982), em que M_1 = massa inicial; M_2 = massa final; t_1 = tempo inicial; t_2 = tempo final.

Os dados em percentagens de emergência foram transformados em arco-seno $\sqrt{x/100}$ e os dados de índice de velocidade de emergência em $\sqrt{x} + 0,5$. Os resultados foram submetidos à análise de variância. A resposta do fator irradiância foi avaliada por análise de regressão, sendo adotados modelos significativos ($p \leq 0,05$) e com maior coeficiente de determinação do ajuste da regressão (R^2). As médias do fator genótipo foram comparadas pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação à qualidade física das sementes dos genótipos de mamoeiro, observou-se que os híbridos Caliman 01 e JS12 x Waimanalo apresentaram maior umidade, sendo que Caliman 01 também apresentou maior comprimento e peso de mil sementes (Tabela 1).

A umidade das sementes pode influenciar na velocidade de absorção de água, durante o processo de embebição, sendo que teores de água abaixo dos ideais podem comprometer o processo germinativo. Para mamão, a secagem de sementes até 7,7%

de umidade tem efeito positivo sobre o seu vigor (Berbert et al. 2008), conforme os valores médios de umidade observados para os híbridos Caliman 01 e JS12 x Waimanalo. Em estudos comparativos, a umidade não deve variar mais que 2% entre as amostras (Marcos Filho 2005). Neste estudo, foi observado variação de 1,62% entre os genótipos, sendo que o híbrido JS12 x Waimanalo apresentou a maior e o híbrido triplo a menor umidade.

Caliman 01 apresentou maior média de comprimento e peso de mil sementes (Tabela 1). No geral, sementes que apresentam maior tamanho (e massa) também apresentam maior emergência e desenvolvimento inicial das plântulas. Em trabalho realizado com sementes de *Tecoma stans*, sementes de maior tamanho geraram plântulas mais vigorosas (maior massa seca), principalmente nos três primeiros meses de desenvolvimento (Socolowski et al. 2011). Isso pode estar relacionado à maior disponibilidade de recursos armazenados na semente, para o momento inicial da germinação, quando a plântula não realiza fotossíntese.

Para a percentagem e velocidade de emergência, observou-se interação significativa entre genótipo e irradiância (Tabela 2). No geral, a irradiância baixa e intermediária proporcionaram maior emergência. Para o híbrido Caliman 01 e Golden THB, foi observado ajuste ao modelo quadrático de regressão, com tendência a aumento da emergência, em irradiâncias intermediárias. Para o híbrido triplo, houve ajuste ao modelo linear, sendo observada tendência à redução da emergência, com o aumento da irradiância. As médias do híbrido JS 12 x Waimanalo, em resposta aos níveis de irradiância, foram iguais, não sendo aplicada regressão.

Para 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 580 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de irradiância, o híbrido triplo apresentou menor emergência que os demais genótipos. Para 130 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de irradiância, os híbridos Caliman 01 e JS12 x

Tabela 1. Características físicas das sementes de diferentes genótipos de *C. papaya*: umidade (U), comprimento (C), diâmetro (D), peso de mil sementes (PMS) e número de sementes (S) (Alegre, ES, 2011).

| Genótipo | U | C | D | PMS | S |
|------------------|--------|--------|--------|--------|------------------|
| | % | mm | mm | g | kg ⁻¹ |
| Caliman 01 | 7,84 a | 5,52 a | 3,05 a | 17,9 a | 5,58 c |
| Golden THB | 6,69 b | 4,48 c | 3,07 a | 13,4 c | 7,45 a |
| Híbrido triplo | 6,48 b | 5,00 b | 2,87 a | 15,3 b | 6,56 b |
| JS12 x Waimanalo | 8,10 a | 5,18 b | 3,16 a | 13,7 c | 7,28 a |
| C.V. (%) | 5,71 | 4,39 | 5,64 | 5,27 | 5,76 |

Médias seguidas de letras iguais são agrupadas pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) (n = 4).

Tabela 2. Emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas oriundas de sementes de *Carica papaya* L. submetidas a diferentes níveis de irradiância (Alegre, ES, 2011).

| Genótipo | Irradiância ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) | | | | Equação de regressão | R ² |
|------------------|--|---------|--------|--------|--|----------------|
| | 60 | 130 | 580 | 1.200 | | |
| | <i>Emergência (%)</i> | | | | | |
| Caliman 01 | 97 a | 100 a | 96 a | 73 b | $97,4 + 1,63 \cdot 10^{-2}x^{\text{ns}} - 3,09 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 99,67 |
| Golden THB | 94 a | 78 b | 84 a | 47 c | $84,2 + 1,92 \cdot 10^{-2}x^{\text{ns}} - 4,21 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 94,64 |
| Híbrido triplo | 65 b | 80 b | 65 b | 60 bc | $71,4 - 9,89 \cdot 10^{-3}x^*$ | 46,75 |
| JS12 x Waimanalo | 91 a | 89 ab | 94 a | 89 a | - | - |
| C.V. (%) = 9,91 | | | | | | |
| | <i>Índice de velocidade de emergência</i> | | | | | |
| Caliman 01 | 1,12 a | 1,14 a | 0,54 b | 0,66 b | $1,30 - 2,00 \cdot 10^{-3}x^{**} + 1,21 \cdot 10^{-6}x^{2**}$ | 96,33 |
| Golden THB | 1,04 a | 0,91 b | 0,99 a | 0,42 c | $0,95 + 4,61 \cdot 10^{-4}x^{\text{ns}} - 0,75 \cdot 10^{-7}x^{2**}$ | 94,93 |
| Híbrido triplo | 0,73 b | 0,92 b | 0,59 b | 0,63 b | $0,82 - 1,88 \cdot 10^{-4}x^{**}$ | 44,29 |
| JS12 x Waimanalo | 1,04 a | 1,04 ab | 1,03 a | 0,93 a | - | - |
| C.V. (%) = 11,26 | | | | | | |

Médias seguidas por mesma letra (genótipos) não diferem entre si, pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) ($n = 4$). **, * e ns: significativo a 1%, 5% e não significativo, respectivamente. R² = coeficiente de determinação do ajuste da regressão. - médias são estatisticamente iguais e, portanto, não se aplica regressão.

Waimanalo apresentaram maior emergência e, nessa condição, Caliman 01 se destaca por ter apresentado 100% de germinação. Na condição de sol pleno ($1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), o híbrido JS12 x Waimanalo apresentou a maior emergência e o genótipo Golden THB a menor emergência (Tabela 2).

Com relação ao índice de velocidade de emergência (IVE), foi observado ajuste ao modelo quadrático de regressão, para o híbrido Caliman 01 e Golden THB. Para o híbrido triplo, houve redução linear da velocidade de germinação, com o aumento da irradiância. Para o híbrido JS12 x Waimanalo, as médias de IVE, em resposta aos níveis de irradiância, foram iguais (Tabela 2). Observou-se que o híbrido triplo apresentou menor média, com relação aos demais genótipos, em $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de irradiância. O híbrido JS12 x Waimanalo apresentou maior média na condição de sol pleno ($1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Tabela 2).

Em geral, observou-se que o sol pleno ($1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de irradiância) foi prejudicial ao processo germinativo. Segundo Carvalho & Nakagawa (2012), temperaturas inferiores ou superiores à ótima (associadas à menor e maior luminosidade) tendem a reduzir a velocidade de germinação, expondo as plântulas a fatores adversos por maior período.

Os híbridos Caliman 01 e JS12 x Waimanalo apresentaram médias de emergência e IVE superiores aos demais genótipos, nos diferentes níveis de irradiância. A resposta diferenciada entre os genótipos pode ser atribuída às suas características genéticas. Mesmo quando fornecidas condições idênticas para

a germinação, algumas sementes originam plântulas com maior taxa de crescimento, em função de apresentarem maior capacidade de transformação do suprimento de reservas dos tecidos de armazenamento e maior incorporação desses pelo eixo embrionário (Marcos Filho 2005).

Ainda em função de o híbrido Caliman 01 apresentar maior tamanho de sementes (comprimento e PMS), associado à boa qualidade fisiológica (emergência e IVE), as respostas germinativas dos genótipos de mamoeiro parecem ter relação com a qualidade física das sementes. Socolowski et al. (2011) afirmam que, enquanto a emergência das plântulas está diretamente relacionada à massa das sementes, a sobrevivência das plântulas está relacionada à presença da luz. Assim, as diferenças podem ser visíveis nos momentos iniciais do desenvolvimento e, após a obtenção do estande de plântulas, existe tendência de uniformidade entre as mudas.

Com relação ao desenvolvimento inicial das plântulas, avaliado aos 45 e 120 DAS, houve alterações significativas, quanto ao crescimento e incremento de biomassa das plântulas dos genótipos de mamão, em diferentes irradiâncias, sendo observada interação significativa entre os fatores genótipo e irradiância (Tabelas 3 e 4).

De acordo com a avaliação aos 45 DAS, a irradiância de $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ prejudicou o desenvolvimento das raízes, enquanto o sol pleno ($1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) reduziu o desenvolvimento da parte aérea. Para $1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de irradiância, o genótipo Golden THB foi o mais prejudicado, quanto

Tabela 3. Médias das variáveis de crescimento inicial das plântulas de *Carica papaya* L. submetidas a diferentes níveis de irradiância, aos 45 dias após a semeadura (Alegre, ES, 2011).

| Genótipo | Irradiância ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) | | | | Equação de regressão | R ² |
|--|--|---------|---------|---------|---|----------------|
| | 60 | 130 | 580 | 1.200 | | |
| <i>Comprimento da raiz (cm)</i> | | | | | | |
| Caliman 01 | 11,4 a | 13,1 ab | 14,2 a | 13,9 a | $11,5 + 8 \cdot 10^{-3}x^{**} - 5 \cdot 10^{-6}x^{2**}$ | 82,88 |
| Golden THB | 11,9 a | 13,7 a | 14,0 ab | 12,7 b | $12,2 + 6 \cdot 10^{-3}x^{**} - 5 \cdot 10^{-6}x^{2**}$ | 59,43 |
| Híbrido triplo | 11,4 a | 12,6 b | 13,2 b | 13,9 a | $11,9 + 1,82 \cdot 10^{-3}x^{**}$ | 80,46 |
| JS12 x Waimanalo | 11,4 a | 12,2 b | 13,2 b | 13,9 a | $11,7 + 2 \cdot 10^{-3}x^{**}$ | 89,99 |
| C.V. (%) = 4,32 | | | | | | |
| <i>Comprimento da parte aérea (cm)</i> | | | | | | |
| Caliman 01 | 13,1 a | 16,0 a | 10,5 a | 6,2 a | $15,16 - 7,45 \cdot 10^{-3}x^{**}$ | 88,48 |
| Golden THB | 12,3 ab | 11,6 c | 10,3 ab | 5,5 a | $12,2 - 1,4 \cdot 10^{-3}x^{ns} - 3 \cdot 10^{-6}x^{2**}$ | 99,29 |
| Híbrido triplo | 11,6 bc | 13,2 b | 9,3 bc | 5,9 a | $12,88 - 5,84 \cdot 10^{-3}x^{**}$ | 93,62 |
| JS12 x Waimanalo | 10,7 c | 11,7 c | 9,0 c | 6,7 a | $11,50 - 4,02 \cdot 10^{-3}x^{**}$ | 94,43 |
| C.V. (%) = 6,04 | | | | | | |
| <i>Diâmetro do coleto (mm)</i> | | | | | | |
| Caliman 01 | 0,29 a | 0,33 a | 0,33 a | 0,21 b | $0,3 + 1,9 \cdot 10^{-4}x^{**} - 2 \cdot 10^{-7}x^{2**}$ | 95,66 |
| Golden THB | 0,29 a | 0,25 b | 0,30 a | 0,16 c | $0,3 + 1,8 \cdot 10^{-4}x^{**} - 2 \cdot 10^{-7}x^{2**}$ | 84,47 |
| Híbrido triplo | 0,28 a | 0,29 ab | 0,30 a | 0,20 b | $0,3 + 1,5 \cdot 10^{-4}x^{*} - 2 \cdot 10^{-7}x^{2**}$ | 99,28 |
| JS12 x Waimanalo | 0,25 a | 0,27 b | 0,29 a | 0,26 a | - | - |
| C.V. (%) = 8,70 | | | | | | |
| <i>Massa seca da raiz (mg)</i> | | | | | | |
| Caliman 01 | 8,1 a | 20,1 a | 29,9 a | 16,8 b | $7,6 + 7,1 \cdot 10^{-2}x^{**} - 5 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 87,30 |
| Golden THB | 6,3 a | 15,5 b | 22,0 b | 8,3 c | $5,9 + 5,5 \cdot 10^{-2}x^{**} - 4 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 88,14 |
| Híbrido triplo | 6,4 a | 14,4 b | 23,0 b | 15,8 b | $5,6 + 5,2 \cdot 10^{-2}x^{**} - 4 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 91,16 |
| JS12 x Waimanalo | 5,3 a | 14,7 b | 24,7 b | 26,4 a | $5,1 + 5,2 \cdot 10^{-2}x^{**} - 3 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 93,29 |
| C.V. (%) = 12,59 | | | | | | |
| <i>Massa seca da parte aérea (mg)</i> | | | | | | |
| Caliman 01 | 51,4 a | 98,3 a | 87,9 a | 36,8 b | $62,4 + 0,12x^{**} - 1,2 \cdot 10^{-4}x^{2**}$ | 67,47 |
| Golden THB | 41,4 a | 57,7 c | 64,9 b | 20,2 c | $40,3 + 0,10x^{**} - 10 \cdot 10^{-4}x^{2**}$ | 95,11 |
| Híbrido triplo | 45,8 a | 75,6 b | 69,0 b | 32,1 bc | $52,4 + 0,08x^{**} - 8,3 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 73,15 |
| JS12 x Waimanalo | 36,7 a | 64,5 bc | 71,5 b | 64,8 a | $41,3 + 0,09x^{**} - 6,1 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 64,37 |
| C.V. (%) = 13,73 | | | | | | |

Médias seguidas por mesma letra (genótipos) não diferem entre si, pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) ($n = 4$). **, * e ns: significativo a 1%, 5% e não significativo, respectivamente. R² = coeficiente de determinação do ajuste da regressão. - médias são estatisticamente iguais e, portanto, não se aplica regressão.

ao comprimento das raízes, diâmetro do coleto e massa seca das raízes, enquanto o genótipo Híbrido JS12 x Waimanalo apresentou maior massa seca da raiz e da parte aérea e diâmetro do coleto. Caliman 01 apresentou maior comprimento e massa seca da parte aérea, em irradiância intermediária ($130 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $580 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Tabela 3).

Aos 120DAS, a baixa irradiância ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) influenciou negativamente no desenvolvimento das mudas. Para todas as características avaliadas, em todos os genótipos, foi observada resposta ajustada ao modelo quadrático, com tendência ao aumento do desenvolvimento das plântulas sob irradiâncias intermediárias ($130 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $580 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e redução na irradiância baixa e alta ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Tabela 4).

Para a maioria dos genótipos, houve menor desenvolvimento da parte aérea (CPA) no tratamento a sol pleno, o que pode estar relacionado aos mecanismos de dissipação do excesso de energia luminosa (Campostrini & Glenn 2007, Reis & Campostini 2008), sugerindo a necessidade de sombreamento, durante o desenvolvimento inicial. Aos 45 DAS, no entanto, a pleno sol ($1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), o híbrido JS12 x Waimanalo apresentou maiores médias de diâmetro do coleto e massa seca das plântulas, o que pode indicar que esse genótipo apresenta um mecanismo eficiente de dispersão do excesso de luz pelos fotossistemas, evitando fotodanos e maximizando a eficiência fotossintética e o crescimento, nessa condição (Hunt 1982, Campostrini & Glenn 2007, Lima et al. 2007).

Tabela 4. Médias das variáveis de crescimento inicial das mudas de *Carica papaya* L. submetidas a diferentes níveis de irradiância, aos 120 dias após a semeadura (Alegre, ES, 2011).

| Genótipo | Irradiância ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) | | | | Equação de regressão | R ² |
|--|--|---------|---------|---------|---|----------------|
| | 60 | 130 | 580 | 1.200 | | |
| <i>Comprimento da raiz (cm)</i> | | | | | | |
| Caliman 01 | 16,1 a | 17,9 b | 28,8 a | 27,8 a | $13,5 + 3,9 \cdot 10^{-2}x^{**} - 2,3 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 99,81 |
| Golden THB | 15,8 a | 16,6 b | 29,8 a | 22,8 b | $11,9 + 5,1 \cdot 10^{-2}x^{**} - 3,5 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 98,03 |
| Híbrido triplo | 17,5 a | 23,5 a | 28,9 a | 23,4 b | $17,1 + 3,6 \cdot 10^{-2}x^{**} - 2,6 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 88,13 |
| JS12 x Waimanalo | 16,7 a | 18,6 b | 26,4 a | 29,6 a | $15,3 + 2,6 \cdot 10^{-2}x^{**} - 1,2 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 99,97 |
| C.V. (%) = 9,93 | | | | | | |
| <i>Comprimento da parte aérea (cm)</i> | | | | | | |
| Caliman 01 | 38,5 a | 60,3 a | 55,3 a | 29,9 a | $43,5 + 5,8 \cdot 10^{-2}x^{**} - 5,8 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 70,80 |
| Golden THB | 39,5 a | 46,2 b | 60,2 a | 16,0 b | $34,2 + 0,10x^{**} - 9,7 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 99,96 |
| Híbrido triplo | 44,7 a | 60,2 a | 52,6 a | 19,7 b | $48,3 + 4,3 \cdot 10^{-2}x^{**} - 5,6 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 90,03 |
| JS12 x Waimanalo | 38,2 a | 50,7 b | 42,3 b | 22,5 ab | $42,2 + 2,1 \cdot 10^{-2}x^{ns} - 3,1 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 83,63 |
| C.V. (%) = 10,95 | | | | | | |
| <i>Diâmetro do coleto (mm)</i> | | | | | | |
| Caliman 01 | 0,60 a | 0,77 a | 0,86 a | 0,75 a | $0,6 + 7,5 \cdot 10^{-3}x^{**} - 5,6 \cdot 10^{-8}x^{2**}$ | 78,53 |
| Golden THB | 0,58 a | 0,60 b | 0,80 a | 0,53 b | $0,5 + 9,4 \cdot 10^{-4}x^{**} - 7,7 \cdot 10^{-8}x^{2**}$ | 98,00 |
| Híbrido triplo | 0,66 a | 0,78 a | 0,80 a | 0,68 a | $0,7 + 4,5 \cdot 10^{-4}x^{**} - 3,7 \cdot 10^{-7}x^{2**}$ | 68,65 |
| JS12 x Waimanalo | 0,62 a | 0,75 a | 0,74 a | 0,67 a | $0,7 + 3,4 \cdot 10^{-4}x^{**} - 2,7 \cdot 10^{-7}x^{2**}$ | 46,58 |
| C.V. (%) = 8,98 | | | | | | |
| <i>Massa seca da raiz (mg)</i> | | | | | | |
| Caliman 01 | 42,5 a | 211 a | 528 a | 464 a | $-6,15 + 1,45x^{**} - 8,85 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 97,88 |
| Golden THB | 43,5 a | 59,2 b | 459 ab | 167 c | $-82,7 + 1,58x^{**} - 1,14 \cdot 10^{-3}x^{2**}$ | 97,03 |
| Híbrido triplo | 92,5 a | 203 a | 509 a | 371 b | $27,1 + 1,35x^{**} - 8,87 \cdot 10^{-4}x^{2**}$ | 99,60 |
| JS12 x Waimanalo | 74,5 a | 221 a | 395 b | 422 ab | $65,7 + 0,86x^{**} - 4,76 \cdot 10^{-4}x^{2**}$ | 94,42 |
| C.V. (%) = 17,53 | | | | | | |
| <i>Massa seca da parte aérea (mg)</i> | | | | | | |
| Caliman 01 | 488 a | 1.287 a | 1.762 a | 1.266 a | $524 + 3,8x^{**} - 2,67 \cdot 10^{-3}x^{2**}$ | 79,79 |
| Golden THB | 430 a | 665 b | 1.721 a | 447 c | $109 + 5,1x^{**} - 4,00 \cdot 10^{-3}x^{2**}$ | 99,79 |
| Híbrido triplo | 667 a | 1.244 a | 1.714 a | 747 b | $616 + 3,7x^{**} - 2,98 \cdot 10^{-3}x^{2**}$ | 90,32 |
| JS12 x Waimanalo | 442 a | 1.317 a | 1.152 b | 679 bc | $673 + 1,9x^{**} - 1,62 \cdot 10^{-3}x^{2**}$ | 38,99 |
| C.V. (%) = 14,42 | | | | | | |

Médias seguidas por mesma letra (genótipos) não diferem entre si, pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) ($n = 4$). **, * e ns: significativo a 1%, 5% e não significativo, respectivamente. R² = coeficiente de determinação do ajuste da regressão.

Reis & Campostrini (2008) investigaram a eficiência fotoquímica do mamoeiro em campo, em duas épocas do ano, verificando que a menor assimilação fotossintética teve relação com a maior luminosidade (dias com ausência de nuvens). Embora a luz insuficiente, ou em excesso, possa causar comprometimentos no processo fotossintético, as plantas possuem mecanismos para evitar os danos fotoinibitórios.

No entanto, dependendo da intensidade da irradiância imposta, os processos fotossintéticos podem ser comprometidos e, conseqüentemente, ocorrer menor incremento de biomassa das plantas. Como resposta, as plantas investem mais no desenvolvimento da parte aérea e na superfície foliar, mas de forma desequilibrada, levando à formação de plantas

estioladas e frágeis (Hunt 1982) e mudas sem padrão adequado para serem levadas a campo. Dessa forma, o aumento do comprimento da parte aérea (CPA), sob baixa irradiância ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), pode indicar uma fuga à condição estressante, pela falta de luz, e não maior desenvolvimento inicial das mudas. Assim, devem ser observadas outras características, como o diâmetro do coleto, razão entre a massa da raiz e da parte aérea e taxas de crescimento.

Em relação ao diâmetro do coleto (DC), foram observadas respostas ajustadas ao modelo quadrático, com aumento nas irradiâncias intermediárias ($130 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $580 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para todos os genótipos, à exceção do híbrido JS12 x Waimanalo, na avaliação aos 45 DAS, que manteve média constante.

Neste estudo, observou-se que, até os 120 DAS (quatro meses de cultivo), os genótipos de mamão avaliados apresentaram maior germinação e desenvolvimento inicial das plantas, em irradiância intermediária. No entanto, após 12 meses de cultivo, Martelleto et al. (2008) verificaram maior diâmetro do tronco do mamoeiro, em tratamentos a sol pleno, com diâmetro 15% superior, em relação ao sombreamento. Isso sugere a necessidade de sombreamento nas fases iniciais do estabelecimento das plântulas (germinação), mas indica que o sombreamento intenso pode ser prejudicial, no decorrer do seu cultivo (desenvolvimento das mudas). Como plantas com maior diâmetro de coleta são muito importantes, do ponto de vista agrônomico, tendo-se em vista a estreita correlação entre diâmetro do tronco e produção de frutos, no mamoeiro (Ferreira et al. 2012), é necessário o aumento gradual dos níveis de irradiância, para que tal relação se estabeleça e mudas mais vigorosas possam ser produzidas.

O aumento dos níveis de irradiância também é imprescindível, porque as condições ambientais influenciam em processos fisiológicos capazes de alterar a expressão sexual do mamoeiro: menor irradiância induz à formação de flores estaminadas (plantas masculinas, indesejáveis) (Martelleto et al. 2011).

Aos 45 e 120 DAS, para todos os genótipos estudados, observou-se tendência a maiores médias de massa seca das plântulas, em irradiâncias intermediárias (Tabelas 3 e 4), assim como maiores relações entre massa seca das raízes e da parte aérea

(Tabela 5). Em geral, a relação entre a massa da parte radicular (R) deve ser próxima à da parte aérea (PA), para que a muda tenha um bom desenvolvimento no campo (Hunt 1982). Além disso, a variação da relação R/PA é um indicativo da capacidade de os genótipos se ajustarem à condição de sombreamento.

Para os genótipos de mamoeiro avaliados neste estudo, a relação R/PA sugere maior alocação de massa seca para a parte aérea das plantas sob irradiância baixa ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), com menores médias de R/PA, quando comparada aos demais níveis de irradiância (Tabela 5). Essa resposta pode representar prejuízo ao desenvolvimento das mudas e, com isso, novamente observa-se tendência à necessidade de redução gradual do sombreamento, durante a produção de mudas de mamoeiro (Lima et al. 2007, Martelleto et al. 2008).

Lima et al. (2007) avaliaram índices fisiológicos, como taxas de crescimento relativo e absoluto, de mudas de mamoeiro, em casa-de-vegetação. Tais índices mostraram-se ferramentas eficientes para identificar e comparar diferentes materiais genéticos, durante o crescimento inicial de plantas de mamoeiro. Essas análises são um instrumento simples e preciso, para avaliar as respostas fisiológicas, pois, assim, é possível conhecer a cinética de produção de biomassa das plantas (Benincasa 2003).

No presente estudo, a avaliação da taxa de crescimento absoluto dos genótipos indica que as irradiâncias intermediárias ($130 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $580 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) promoveram maior incremento de biomassa nas mudas. Taxa de crescimento absoluto

Tabela 5. Razão entre massa seca da raiz e da parte aérea e taxa de crescimento absoluto de plântulas oriundas de sementes de *Carica papaya* L. submetidas a diferentes níveis de irradiância (Alegre, ES, 2011).

| Genótipo | Irradiância ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) | | | | Equação de regressão | R ² |
|------------------|---|---------|---------|---------|---|----------------|
| | 60 | 130 | 580 | 1.200 | | |
| | <i>Razão raiz/parte aérea</i> | | | | | |
| Caliman 01 | 0,10 b | 0,16 a | 0,28 bc | 0,40 b | $0,1 + 4 \cdot 10^{-4}x^{**} - 1,1 \cdot 10^{-7}x^{2**}$ | 98,72 |
| Golden THB | 0,10 b | 0,10 b | 0,27 c | 0,52 a | $0,08 + 3 \cdot 10^{-4}x^{**} - 0,7 \cdot 10^{-7}x^{2**}$ | 99,83 |
| Híbrido triplo | 0,14 ab | 0,17 a | 0,32 ab | 0,52 a | $0,12 + 3,34 \cdot 10^{-4}x^{**}$ | 99,98 |
| JS12 x Waimanalo | 0,16 a | 0,18 a | 0,34 a | 0,50 a | $0,14 + 4 \cdot 10^{-4}x^{**} - 0,8 \cdot 10^{-7}x^{2**}$ | 99,98 |
| C.V. (%) = 8,32 | | | | | | |
| | <i>Taxa de crescimento absoluto (mg dia⁻¹)</i> | | | | | |
| Caliman 01 | 6,28 a | 18,40 a | 28,96 a | 22,34 a | $6 + 6,8 \cdot 10^{-2}x^{**} - 4,5 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 87,77 |
| Golden THB | 5,68 a | 8,68 b | 27,90 a | 7,80 c | $-0,3 + 0,1x^{**} - 6,710^{-5}x^{2**}$ | 99,23 |
| Híbrido triplo | 9,42 a | 18,09 a | 28,40 a | 14,62 b | $7,8 + 0,07x^{**} - 5 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 93,90 |
| JS12 x Waimanalo | 6,34 a | 19,44 a | 19,32 b | 13,46 b | $9,2 + 0,04x^{**} - 2,7 \cdot 10^{-5}x^{2**}$ | 45,30 |
| C.V. (%) = 14,45 | | | | | | |

Médias seguidas por mesma letra (genótipos) não diferem entre si, pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) ($n = 4$). **, * e m: significativo a 1%, 5% e não significativo, respectivamente. R² = coeficiente de determinação do ajuste da regressão.

inferior foi verificada para todos os genótipos, em $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Tabela 5).

O genótipo Caliman 01 apresentou maior crescimento, em relação aos demais genótipos, em $1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de irradiância, enquanto o genótipo Golden THB apresentou taxas de crescimento inferiores aos demais genótipos, em $130 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Tabela 5).

Variação da massa da raiz, em relação à parte aérea, e da taxa de crescimento absoluto podem ser empregadas para descrever as preferências ecológicas das plantas, quanto à disponibilidade de luz (Lambers & Poorter 1992). A análise de crescimento tem sido usada na tentativa de explicar diferenças no crescimento de ordem genética, ou resultante de modificações do ambiente, e constitui ferramenta eficiente para a identificação de materiais promissores, além de identificar características que, no crescimento inicial, indiquem possibilidade de aumento no rendimento da planta adulta, favorecendo trabalhos de melhoramento, na busca por materiais mais produtivos (Lima et al. 2007).

Com base nessas análises, é notória a influência da luminosidade no desenvolvimento inicial dos genótipos de mamoeiro: as irradiâncias intermediárias ($130 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $580 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) promoveram bom desempenho germinativo e desenvolvimento das mudas. Os extremos de irradiância ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) se mostraram prejudiciais, uma vez que, nos momentos iniciais do desenvolvimento, o sol pleno prejudica a emergência e, durante o desenvolvimento das mudas, a baixa irradiância reduz acentuadamente o desenvolvimento radicular, em relação ao da parte aérea, o diâmetro do coleto das mudas e a taxa de crescimento absoluto.

CONCLUSÕES

1. A elevada irradiância ($1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) prejudicou a emergência e a baixa irradiância ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) o desenvolvimento das mudas.
2. As irradiâncias intermediárias ($130 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $580 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) mostraram-se adequadas à emergência e desenvolvimento das mudas, até os 120 dias.
3. O genótipo Golden THB foi o mais sensível à condição de sol pleno, enquanto os genótipos Caliman 01 e o híbrido JS12 x Waimanalo toleraram a luminosidade mais intensa, durante a emergência e o desenvolvimento inicial das mudas.

AGRADECIMENTOS

À Caliman Agrícola S/A, pela cessão de sementes, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsas de estudo e pesquisa, respectivamente.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, J. G. et al. Efeito do recipiente e ambiente de cultivo sobre o desenvolvimento de mudas de mamoeiro cv. Sunrise Solo. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 28, n. 3, p. 526-529, 2006.
- BERBERT, P. A. et al. Qualidade fisiológica de semente de mamão em função da secagem e do armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 30, n. 1, p. 40-48, 2008.
- BENINCASA, M. M. P. *Análise de crescimento de plantas*. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Brasília, DF: MAPA/DAS/ACS, 2009.
- CAMPOSTRINI, E.; GLENN, D. M. Ecophysiology of papaya: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, Campos dos Goytacazes, v. 19, n. 4, p. 413-424, 2007.
- CARDOSO, D. L. et al. Diversidade genética e parâmetros genéticos relacionados à qualidade fisiológica de sementes em germoplasma de mamoeiro. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 56, n. 5, p. 572-579, 2009.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 5. ed. Campinas: Funep, 2012.
- COSTA, E. et al. Crescimento de mudas de mamoeiro conduzidas em diferentes ambientes protegidos, recipientes e substratos na região de Aquidauana, Estado do Mato Grosso do Sul. *Acta Scientiarum Agronomy*, Maringá, v. 32, n. 3, p. 463-470, 2010.
- FERREIRA, J. P. et al. Correlações entre características morfoagronômicas de acessos de mamoeiro. *Enciclopédia Biosfera*, Goiânia, v. 8, n. 14, p. 246-257, 2012.
- HUNT, R. *Plant growth curves: the functional approach to plant growth analysis*. London: Edward Arnold Publishers, 1982.
- LAMBERS, H.; POORTER, H. Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecology consequences. *Advances in Ecology Research*, San Diego, v. 23, n. 1, p. 187-261, 1992.

- LIMA, J. F.; PEIXOTO, C. P.; LEDO, C. A. S. Índices fisiológicos e crescimento inicial de mamoeiro (*Carica papaya* L.) em casa de vegetação. *Ciência e Agronomia*, Lavras, v. 31, n. 5, p. 1358-1363, 2007.
- MACHADO-FILHO, J. A. et al. Efeito da umidade do ar nas trocas gasosas em folhas de mamoeiro (*Carica papaya* L.) cultivado em condições de campo. *Bragantia*, Campinas, v. 65, n. 2, p. 185-196, 2006.
- MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.
- MARCOS FILHO, J. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba: Fealq, 2005.
- MARTELLETO, L. A. P. et al. Cultivo orgânico do mamoeiro 'Baixinho de Santa Amália' em diferentes ambientes de proteção. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 30, n. 3, p. 662-666, 2008.
- MARTELLETO, L. A. P. et al. Expressão da esterilidade feminina e capeloidia em mamoeiro sob diferentes ambientes de cultivo protegido. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 33, n. 4, p. 1185-1193, 2011.
- REIS, F. O.; CAMPOSTRINI, E. Trocas gasosas e eficiência fotoquímica potencial em mamoeiro do grupo 'Formosa' cultivado em condição de campo. *Bragantia*, Campinas, v. 67, n. 4, p. 815-822, 2008.
- SERRANO, L. A. L.; CATTANEO, L. F. O cultivo do mamoeiro no Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 32, n. 3, p. 657-959, 2010.
- SOCOLOWSKI, F.; VIEIRA, D. C. M.; TAKAKI, M. Massa das sementes de *Tecoma stans* L. Juss. ex Kunth (Bignoniaceae): efeitos na emergência e desenvolvimento de suas plântulas no sol e na sombra. *Biota Neotropica*, Campinas, v. 11, n. 2, p. 171-178, 2011.

ANEXO II

DESEMPENHO DE GENÓTIPOS DE MAMOEIRO QUANTO À QUALIDADE FÍSICA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES E ANÁLISES DE DIVERSIDADE¹

¹ *Artigo aceito para publicação em 23-02-14 na revista Bioscience Journal.*

2

3 **DESEMPENHO DE GENÓTIPOS DE MAMOEIRO QUANTO À QUALIDADE FÍSICA E**
4 **FISIOLÓGICA DE SEMENTES E ANÁLISES DE DIVERSIDADE**

5

6 ***PERFORMANCE OF PAPAYA GENOTYPES AS TO THE SEEDS PHYSICAL AND***
7 ***PHYSIOLOGICAL QUALITY AND DIVERSITY ANALYSIS***

8

9 **RESUMO:** Objetivou-se com este trabalho avaliar o desempenho de sementes de oito genótipos de
10 *Carica papaya* L. antes e após o envelhecimento acelerado. Foram avaliadas as características
11 físicas: umidade, comprimento, diâmetro e peso de mil sementes. Sementes não envelhecidas
12 (controle) e sementes submetidas ao envelhecimento acelerado (43 °C por 72 h) foram semeadas em
13 rolo de papel germitest e mantidas em BOD a 20-30 °C. Foram avaliadas: porcentagem e frequência
14 de germinação, índice de velocidade de germinação, tempo médio de germinação e porcentagem de
15 plantas normais. Após 30 dias da semeadura foram avaliados comprimentos da parte aérea e da raiz,
16 massas fresca e seca das plântulas. Em sementes não envelhecidas, o genótipo Caliman 01
17 apresentou maiores porcentagem, velocidade e homogeneidade de germinação, e maior
18 porcentagem de plântulas normais. As sementes do Híbrido JS12 x Waimanalo apresentaram maior
19 vigor após o envelhecimento (84% de germinação e 93% de plântulas normais). A análise de
20 diversidade identificou como dissimilares os genótipos Caliman 01 em sementes não envelhecidas e
21 o Híbrido JS12 x Waimanalo em sementes após o envelhecimento. Estes genótipos apresentam
22 maior desempenho com base nas características físicas e fisiológicas das sementes e na análise de
23 diversidade nas respectivas condições. O tempo médio de germinação é a característica que mais
24 contribui para a separação dos genótipos em sementes não envelhecidas enquanto, em sementes
25 envelhecidas, é o comprimento de raiz.

26 **PALAVRAS-CHAVE:** *Carica papaya* L. Germinação. Vigor. Teste de envelhecimento acelerado.
27 Estatística multivariada.

28

29 **ABSTRACT:** The objective of this study was to evaluate the seeds performance in eight *Carica*
30 *papaya* genotypes, before and after accelerated aging test. We evaluated the seeds physical
31 characteristics: humidity, length, diameter and weight of thousand seeds. Not aging seeds (control)
32 and seeds subjected to accelerated aging test (43 ° C for 72 h) were germinates in paper roll
33 germitest and maintained in BOD at 20-30 ° C. From the daily count, was evaluated the germination
34 percentage and frequency, the speed of germination index, germination time, and the normal plants
35 percentage. After 30 days of culture were evaluated lengths of shoot and root, fresh and dry weight
36 of seedlings. In control seeds, the Caliman 01 genotype had higher percentage, speed and
37 uniformity of germination, and higher normal seedlings percentage. Seeds of the Hybrid JS12 x
38 Waimanalo genotype showed higher vigor after aging (84% of germination and 93% of normal
39 seedlings). The diversity analysis identified as dissimilar the Caliman 01 genotype in control seeds
40 and the Hybrid JS12 x Waimanalo genotype in after aging seeds. This genotypes have higher
41 performance based on assessments of physical and physiological quality of seeds and diversity
42 analysis in this conditions. The germination time was the feature that most contributes to the
43 separation of genotypes in control seeds, and the root length in after aging seeds.

44 **KEYWORDS:** *Carica papaya* L. Germination. Vigor. Accelerated aging test. Multivariate
45 statistical.

46

47 **INTRODUÇÃO**

48

49 A cadeia produtiva do mamão representa uma importante atividade econômica para o Brasil.
50 Algumas características da cultura oneram os custos de produção, principalmente aquelas
51 relacionadas aos gastos com sementes. O mamoeiro apresenta um ciclo de produção com

52 aproveitamento comercial de aproximadamente dois anos, e, ainda, deve ser feito o plantio de três
53 mudas por cova, para garantir a permanência de pelo menos uma planta hermafrodita, triplicando o
54 número de propágulos semeados. Desta forma, a grande demanda e o elevado preço das sementes
55 têm levado muitos fruticultores a utilizar plantios sucessivos com as gerações F2, F3 e F4 de
56 híbridos, causando problemas relacionados à perda de vigor e segregação (MARIN et al., 2006 a, b ;
57 SERRANO; CATTANEO, 2010). Tais informações evidenciam a necessidade de pesquisas que
58 identifiquem genótipos superiores em relação à qualidade física e fisiológica de sementes de
59 mamão.

60 A qualidade fisiológica das sementes baseia-se num conjunto de características que
61 determinam seu valor para a semeadura, sugerindo que o potencial de desempenho das sementes
62 somente pode ser identificado quando considerada, além da sanidade, a interação de atributos de
63 natureza genética, física e fisiológica (HAMPTON, 2002). Estudos que avaliam a qualidade
64 fisiológica de sementes trazem informações importantes para a produção, armazenamento e
65 otimização da germinação de sementes de mamão (MARTINS et al., 2005; SARI et al., 2005;
66 TOKUHISA et al., 2007, 2008; BERBERT et al., 2008; LOPES et al., 2009; CARDOSO et al.,
67 2009; SANTOS et al., 2009, DIAS et al., 2010). No sentido de se obter lavouras mais produtivas e
68 frutos de ótima qualidade, soma-se a contribuição do melhoramento genético, que disponibiliza
69 sementes com atributos aperfeiçoados e desempenho eficiente, trazendo benefícios quanto às
70 práticas culturais, propagação e produção (MARCOS FILHO, 2005; MELETTI et al., 2011).

71 O teste de germinação é usado mundialmente para avaliar a qualidade fisiológica de sementes
72 de diferentes lotes, genótipos ou espécies. No entanto, recomendam-se a utilização de outros testes,
73 como aqueles que avaliam o vigor das sementes, assim como o teste de envelhecimento acelerado,
74 considerado um dos mais sensíveis e eficientes em estimar o vigor das sementes para diversas
75 espécies (AOSA, 2002). Este teste também é usado para identificar o potencial de desempenho de
76 sementes de genótipos, uma vez que pode indicar materiais resistentes ou tolerantes a estresses
77 (MARCOS FILHO, 2005). Embora as amostras apresentem germinação semelhante, podem

78 apresentar diferentes níveis de vigor, o que é atribuído ao fato de que as primeiras alterações nos
79 processos bioquímicos associados com a deterioração manifestam-se antes de ocorrer redução
80 significativa na capacidade germinativa (DELOUCHE; BASKIN, 1973). O teste de envelhecimento
81 acelerado caracteriza-se pelo uso de condições artificiais de elevada umidade e temperatura para
82 acelerar a deterioração e identificar o vigor entre amostras estudadas. Para a sua condução de forma
83 tradicional, Hampton e TeKrony (1995) sugerem o uso da combinação de temperatura de 41 a 43
84 °C, pelo período de 48 a 72 h.

85 O vigor de sementes deve ser avaliado com base num conjunto de características que
86 predizem seu potencial para uma emergência rápida e uniforme, e o desenvolvimento de plântulas
87 normais sob diferentes condições ambientais (AOSA, 2002; HAMPTON, 2002). Para isto, além dos
88 testes estatísticos univariados, como testes de médias, amplamente utilizados na experimentação na
89 área de sementes, a estatística multivariada estuda fenômenos analisando simultaneamente diversas
90 respostas, conduzindo a análises mais informativas. As análises de diversidade são eficientes para
91 avaliar os indivíduos em vários aspectos e proporcionar uma visão holística de cada genótipo
92 (CRUZ et al., 2011).

93 Desta forma, objetivou-se avaliar o desempenho de oito genótipos de mamoeiro (*Carica*
94 *papaya*), antes e após o envelhecimento acelerado, com base na avaliação das características físicas
95 e fisiológicas das sementes, e na análise de diversidade entre os genótipos.

96

97 MATERIAL E MÉTODOS

98

99 O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) do Centro de
100 Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES). Foram utilizadas
101 sementes de oito genótipos de mamoeiro (*Carica papaya* L.): Caliman 01 geração F2 (G1); Tainung
102 01 geração F2 (G2); Golden (G3); Caliman 01 (G4); Sunrise Solo (G5); THB (G6); Híbrido Triplo

103 (G7); e Híbrido JS12 x Waimanalo (G8). O material foi fornecido pela empresa Caliman Agrícola
104 S/A. Foram realizados os seguintes procedimentos e avaliações:

105 **Caracterização física** - o teor de água inicial das sementes (U%) foi obtido por meio do
106 método de estufa a 105 ± 3 °C por 24 h, utilizando-se três subamostras de 0,18 g para cada genótipo
107 e os resultados expressos em porcentagem. O tamanho das sementes foi obtido com o auxílio de um
108 paquímetro digital, sendo o comprimento (C) caracterizado como a distância entre a base e o ápice,
109 e o diâmetro (D) a medida da porção mediana das sementes (mm). O peso de mil sementes (PMS)
110 foi calculado de acordo com Brasil (2009), atendendo os limites permitidos de coeficientes de
111 variação (CV%).

112 **Envelhecimento acelerado** – as sementes foram distribuídas em camada única sobre tela
113 suspensa no interior da caixa plástica gerbox com 40 mL de água destilada, em câmara tipo BOD
114 regulada à temperatura de 43 °C por 72 h (HAMPTON; TEKRONY, 1995; MARCOS FILHO,
115 2005).

116 **Germinação** – o teste de germinação foi conduzido em sementes não envelhecidas (Antes
117 EA) e após o envelhecimento acelerado (EA). As sementes foram distribuídas em rolos de papel
118 (três folhas de papel germitest), umedecidos com água destilada na proporção equivalente a 2,5
119 vezes a massa do papel seco, e mantidas em câmara de germinação tipo BOD regulada à
120 temperatura alternada de 20 – 30 °C. As avaliações foram feitas diariamente, sendo calculados a
121 germinação (G%), o índice de velocidade de germinação (IVG) (sementes germinadas com a
122 protrusão radicular de 0,2 cm, até os 30 dias após a semeadura, de acordo com o modelo proposto
123 por Maguire (1962)); o tempo médio de germinação (TMG) (LABOURIAU, 1983), sendo os
124 resultados expressos em dias; a porcentagem de plântulas normais (PN%), calculado em relação ao
125 total de plântulas germinadas (G%) no final do teste (BRASIL, 2009).

126 **Comprimento e massa das plântulas** – Após 30 dias da instalação do experimento foram
127 avaliados o comprimento da parte aérea (CPA) e da raiz (CR) das plântulas normais, expressos em
128 cm plântula⁻¹, e realizada medida de massa fresca (MF) e massa seca (MS) (estufa de circulação

129 forçada a 70 °C por 72 h), em balança analítica (0,0001 g), e os resultados expressas em mg
130 plântula⁻¹.

131 **Delineamento e análise estatística** - O experimento foi conduzido num delineamento
132 inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições de 25 sementes por tratamento, em esquema
133 fatorial 2 x 8, sendo duas condições da semente (Antes EA e EA) e oito genótipos (G1, G2, G3, G4,
134 G5, G6, G7 e G8). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e ao teste de
135 Tukey, em nível de 5% de probabilidade (ASSISTAT 7.6, 2012). A partir dos dados obtidos, foi
136 realizada análise multivariada da divergência genética objetivando identificar a dissimilaridade
137 entre genótipos e, assim, o seu desempenho diferencial em relação a todos os parâmetros avaliados.
138 Para as características da qualidade física (U%, C, D, PMS) e fisiológica (G%, IVG, TMG, PN%,
139 CPA, CR, MF, MS) das sementes foi obtida a Distância Euclidiana Média Padronizada e,
140 posteriormente, efetuados os métodos de agrupamento hierárquico de Ligação Média entre Grupo
141 (“Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean” - UPGMA). Com base nas mesmas
142 características aplicou-se o método de otimização de agrupamento de Tocher (CRUZ; CARNEIRO,
143 2003), utilizando-se a distância generalizada de Mahalanobis (D^2) como medida de dissimilaridade.
144 Utilizou-se o critério de Singh (1981) para quantificar a contribuição relativa de cada característica
145 para a divergência genética (CRUZ, 2006).

146

147 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

148

149 Com relação à umidade inicial das sementes, observaram-se médias entre 5,01 (G7) e 7,96
150 (G2) (base úmida) para os diferentes genótipos (Tabela 1). O teor de água das sementes verificado
151 nos genótipos em estudo é adequado para a manutenção do vigor das sementes durante o
152 armazenamento, visto que o comportamento das sementes de mamão se aproxima daquele
153 observado em sementes ortodoxas, que têm sua viabilidade estendida pela redução do teor de água
154 (BERBERT et al., 2008, DIAS et al., 2010). No entanto, a variação no teor de água pode influenciar

155 na velocidade de umedecimento das sementes durante o tratamento de envelhecimento e determinar
 156 diferenças na intensidade de deterioração. Além disso, teores de água abaixo dos ideais ou a
 157 incapacidade de absorção adequada de água durante a embebição podem comprometer o processo
 158 germinativo (MARCOS FILHO, 2005). Berbert et al. (2008) verificaram que a secagem das
 159 sementes de mamão Caliman 01 para teor de água de 7,7% tem efeito positivo sobre o seu vigor,
 160 valores próximos daqueles verificados para os genótipos G1, G2 e G4 neste trabalho.

161 **Tabela 1.** Características físicas das sementes: umidade (U), comprimento (C), diâmetro (D), e peso
 162 de mil sementes (PMS), de oito genótipos de mamoeiro.

| Genótipo | U (%) | C (mm) | D (mm) | PMS (g) |
|-----------------|--------------|---------------|---------------|----------------|
| G1 | 7,70 a | 4,21 c | 2,74 bc | 17,2 a |
| G2 | 7,96 a | 4,22 c | 2,67 c | 12,7 c |
| G3 | 5,52 d | 3,66 d | 2,24 d | 13,4 c |
| G4 | 7,04 ab | 5,52 a | 3,05 ab | 17,9 a |
| G5 | 6,57 bc | 4,58 bc | 3,01 abc | 14,2 c |
| G6 | 5,97 cd | 4,48 bc | 3,07 ab | 13,4 c |
| G7 | 5,01 d | 5,00 ab | 2,87 abc | 15,3 b |
| G8 | 5,85 cd | 5,18 a | 3,16 a | 13,7 c |
| F | 33,80 ** | 25,90 ** | 16,23 ** | 35,74 ** |
| CV (%) | 5,02 | 5,15 | 5,16 | 7,63 |

163 Médias seguidas de letras iguais (colunas) não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 1%
 164 de probabilidade (n=4). F = valor de F calculado obtido pela análise de variância. CV (%) =
 165 coeficiente de variação.

166
 167 Os genótipos G4, G7 e G8 apresentaram maior comprimento e diâmetro médio, não diferindo
 168 dos genótipos G5 e G6. Os genótipos G1 e G4 apresentaram maior peso de mil sementes (PMS).
 169 Segundo Martins et al. (2005), sementes de mamão de maior peso (PMS entre 17 e 19 g),
 170 apresentam melhor resposta quanto à avaliação do vigor, valores correspondentes aos verificados
 171 neste trabalho para G1 (17,2 g) e G4 (17,9 g).

172 De acordo com o teste de germinação de sementes não envelhecidas (Antes EA), o genótipo
 173 Caliman 01 (G4) apresentou maior porcentagem de germinação (94%) maior IVG (2,30), e menor
 174 tempo médio de germinação (9 dias) comparado aos demais genótipos (Tabela 2). Também
 175 apresentou alta porcentagem de plântulas normais (98%). Estudos anatômicos com sementes de

176 mamão permitiram observar a existência de diferenças estruturais e dimensionais entre diferentes
 177 genótipos, o que pode interferir diretamente nas respostas às condições de germinação a que são
 178 expostas as sementes (SANTOS et al., 2009). No presente estudo, os fatores mais evidentes com
 179 relação à diferenciação dos lotes parecem estar relacionados às características genéticas, fator que
 180 atua em potencial na qualidade fisiológica e no vigor das sementes (CARDOSO et al., 2009).

181

182 **Tabela 2.** Porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo
 183 médio de germinação (TMG) e porcentagem de plântulas normais (PN) de sementes não
 184 envelhecidas (Antes EA) e após o envelhecimento acelerado (EA) (43 °C por 72 h), de oito
 185 genótipos de mamoeiro.

| Genótipo | G (%) | | IVG | | TMG (dias) | | PN (%) | |
|---------------|----------|-------|----------|---------|------------|---------|----------|--------|
| | Antes EA | EA | Antes EA | EA | Antes EA | EA | Antes EA | EA |
| G1 | 73 bcA | 59 bB | 1,4 bcA | 1,6 bcA | 15 aA | 10 dB | 82 abcA | 76 bcB |
| G2 | 59 cA | 48 bB | 1,2 cB | 1,5 bcA | 16 aA | 13 abcB | 75 bcA | 65 cA |
| G3 | 65 bcA | 77 bA | 1,1 cB | 1,8 bcA | 15 abA | 11 cdB | 92 abA | 68 cB |
| G4 | 94 aA | 59 bB | 2,3 aA | 2,3 aA | 09 dA | 10 dA | 98 aA | 78 bcB |
| G5 | 62 bcA | 65 bA | 1,4 bcB | 1,9 bA | 13 bcA | 12 cdA | 73 bB | 100 aA |
| G6 | 64 bcA | 59 bA | 1,2 cB | 1,4 cA | 15 aA | 14 abA | 87 abcA | 77 bcA |
| G7 | 64 bcA | 56 bA | 1,2 cA | 1,1 dA | 10 dB | 15 aA | 85 abcA | 80 bcA |
| G8 | 77 bB | 84 aA | 1,8 bA | 1,9 bA | 11 cdA | 13 bcA | 84 abcA | 93 abA |
| F | 9,14** | | 4,90 ** | | 19,05** | | 7,96** | |
| CV (%) | 7,99 | | 4,01 | | 7,99 | | 9,99 | |

186 Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas (entre as colunas
 187 Antes EA e EA), não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 1% de probabilidade (n=4). F
 188 = valor de F calculado obtido pela análise de variância. CV (%) = coeficiente de variação.

189

190 Nas sementes submetidas ao envelhecimento acelerado (EA), o genótipo Híbrido JS12 x
 191 Waimanalo (G8) apresentou maior germinação (84%), quando comparado às sementes não
 192 envelhecidas (C) (77%) (Tabela 2). Isto chama atenção, pois, de um modo geral, as sementes dos
 193 demais genótipos apresentaram redução ou mantiveram os valores de germinação estatisticamente
 194 semelhantes após o envelhecimento.

195 O teste de envelhecimento acelerado, embora tenha sido desenvolvido com o objetivo de
196 identificar o potencial de armazenamento de sementes (DELOUCHE; BASKIN, 1973), também
197 tem sido usado para identificar o potencial de desempenho de sementes, uma vez que pode indicar
198 materiais resistentes ou tolerantes a estresses (MARCOS FILHO, 2005). Acredita-se, portanto, que
199 o G8 apresente características germinativas singulares que podem estar relacionadas a questões de
200 resistência a estresses: as suas sementes expressam maior vigor de germinação após serem
201 submetidas ao estresse de temperatura e umidade elevadas.

202 As respostas observadas nos diferentes genótipos podem estar relacionadas também ao
203 fenômeno de superação da dormência. A intensa domesticação e os trabalhos de melhoramento
204 genético vegetal procuram promover a remoção dos mecanismos de dormência das sementes, sendo
205 esta principalmente determinada por fatores genéticos, com certa plasticidade na expressão
206 genotípica pela influência do ambiente. Assim, sob condições ambientais menos favoráveis a
207 dormência pode se manifestar, mesmo em espécies cultivadas (MARCOS FILHO, 2005), como o
208 mamoeiro. A dormência é comumente observada em sementes de *C. papaya* (SARI et al., 2005;
209 TOKUHISA et al., 2007, 2008, LOPES et al., 2009; DIAS et al., 2010). Trabalho realizado por
210 Tokuhisa et al. (2007) utilizaram o EA como método de superação de dormência de sementes de *C.*
211 *papaya* Tainung 01.

212 Após o envelhecimento, os genótipos G5 e G8 apresentaram aumento da porcentagem de
213 plântulas normais (de 73 para 100%; de 84 para 93%, respectivamente), sem diferir estatisticamente
214 dos genótipos G1, G2, G6 e G7 (Tabela 2). O G8, além de apresentar maior potencial germinativo
215 após suas sementes serem submetidas ao EA, apresentou redução da formação de plântulas
216 anormais, sugerindo superação de dormência e/ou resistência ao estresse. Os genótipos G1, G2 e G4
217 apresentaram redução significativa da porcentagem de germinação após o EA, e os genótipos G3 e
218 G4 apresentaram redução na porcentagem de plântulas normais após o EA, indicando que a
219 condição de envelhecimento (43 °C por 72h) pode ter acelerado a deterioração das sementes destes
220 genótipos.

221 O tempo médio de germinação das sementes variou de 09 a 16 dias. Observa-se que em cinco
 222 dos oito genótipos estudados, as sementes que foram submetidas ao EA apresentaram redução do
 223 tempo médio de germinação (Tabela 2). O genótipo Caliman 01 (G4) apresentou o menor tempo
 224 médio de germinação (9 dias) associado a maior média de porcentagem de plântulas normais nas
 225 sementes não envelhecidas.

226 Com relação ao desenvolvimento das plântulas (Tabela 3), em sementes não envelhecidas
 227 (Antes EA), maiores CPA (6,2 cm) e CR (3,4 cm) foram observados para o G6, maior média de
 228 massa fresca (MF) (99 mg) foi verificado no G4 e maior média de massa seca (MS) (5,4 mg) no G1,
 229 diferindo estatisticamente dos demais genótipos avaliados.

230

231 **Tabela 3.** Comprimento de parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), massa fresca (MF) e
 232 massa seca (MS) de plântulas após 30 dias da sementeira, provenientes de sementes não
 233 envelhecidas (Antes EA) e após o envelhecimento acelerado (EA) (43 °C por 72 h), de oito
 234 genótipos de mamoeiro.

| Genótipo | CPA (cm) | | CR (cm) | | MF (mg) | | MS (mg) | |
|----------|----------|----------|----------|---------|----------|-------|----------|--------|
| | Antes EA | EA | Antes EA | EA | Antes EA | EA | Antes EA | EA |
| G1 | 2,8 cA | 3,0 dA | 0,7 dA | 0,9 cA | 61 bA | 52 bA | 5,4 aA | 3,5 aB |
| G2 | 2,9 cA | 3,4 cdA | 0,5 dB | 0,9 cA | 45 cA | 52 BA | 4,3 bA | 2,9 aB |
| G3 | 4,9 bA | 3,2 dB | 2,0 bA | 1,9 bA | 58 bcA | 58 bA | 3,5 cdA | 3,3 aA |
| G4 | 4,8 bA | 4,4 bcA | 1,6 bA | 1,6 bA | 99 aA | 48 bB | 2,5 dA | 2,9 aA |
| G5 | 4,7 bA | 4,5 bcA | 1,5 bcA | 1,4 bcA | 60 bcA | 62 bA | 4,1 bcA | 3,3 aB |
| G6 | 6,2 aA | 4,6 bB | 3,4 aA | 1,5 bB | 70 bA | 48 bB | 3,6 bcA | 3,0 aB |
| G7 | 4,8 bA | 4,0 bcdB | 1,5 bcA | 1,5 bA | 55 bcA | 56 bA | 3,5 cdA | 3,7 aA |
| G8 | 4,4 bB | 6,0 aA | 1,1 cdB | 4,0 aA | 57 bcB | 82 aA | 3,1 cdA | 3,5 aA |
| F | 9,46** | | 61,54** | | 19,96** | | 7,13** | |
| CV (%) | 11,87 | | 14,61 | | 11,87 | | 12,86 | |

235 Médias seguidas de letras iguais, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas (entre as colunas
 236 Antes EA e EA), não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 1% de probabilidade (n=4). F
 237 = valor de F calculado obtido pela análise de variância. CV (%) = coeficiente de variação.

238

239 O EA promoveu a redução ou manutenção dos valores médios de comprimento da parte aérea
 240 (CPA), à exceção do G8, que apresentou maior CPA após o envelhecimento (Tabela 3); para o

241 comprimento da raiz (CR) além do G8, também o genótipo G2 apresentou maior média de CR. A
242 exposição ao estresse do envelhecimento acelerado, ou seja, à temperatura e umidade relativa
243 elevadas, pode determinar a ativação de certas enzimas, que podem influenciar nas atividades
244 metabólicas e desta forma, promover um maior crescimento, conforme verificado pelo aumento do
245 comprimento do hipocótilo e da raiz primária (BINOTTI et al., 2008). Os genótipos (G2 e G8), que
246 apresentaram maior CPA e CR após o EA podem, portanto, terem sofrido influência positiva da
247 temperatura na ativação destas enzimas.

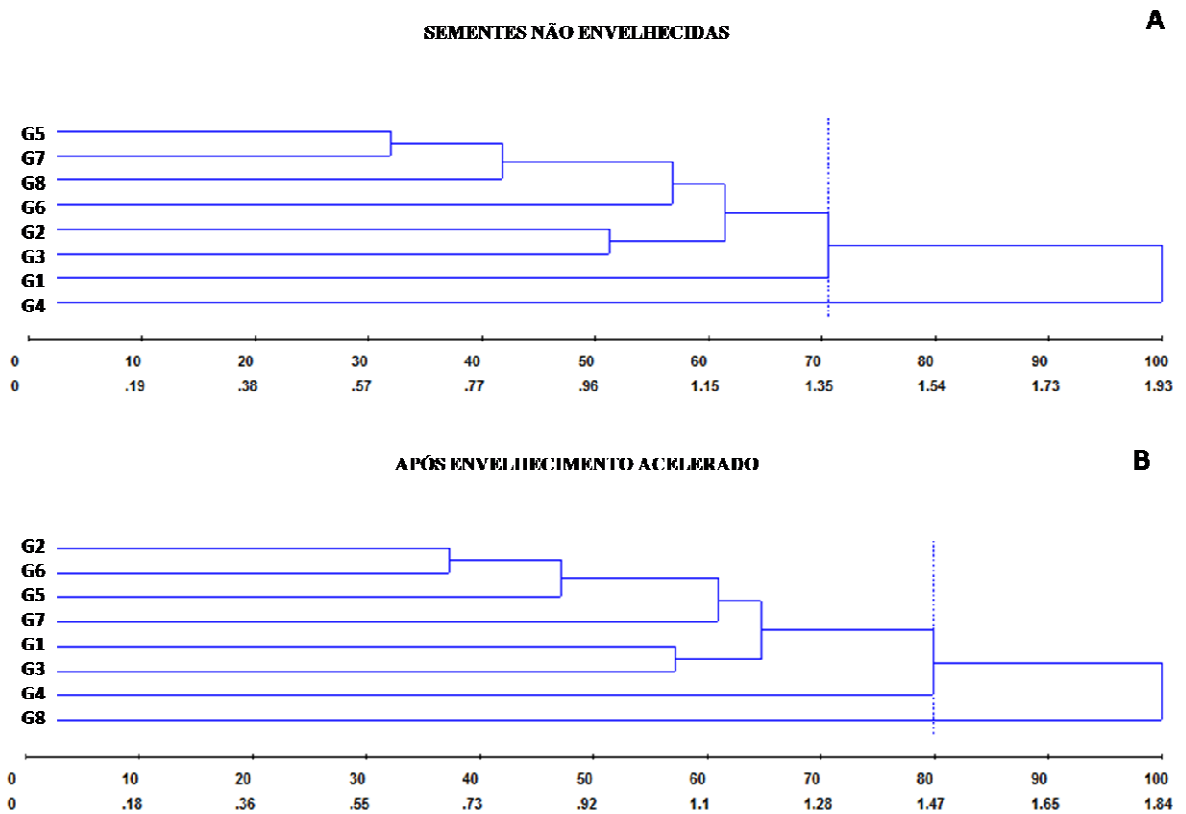
248 Com relação à massa fresca das plântulas, somente o genótipo G8 apresentou médias
249 superiores após EA, quando comparada às sementes não envelhecidas (Antes EA). Não foi
250 verificada variação significativa quanto ao valor de MS entre os genótipos na condição de EA.

251 Entre as manifestações fisiológicas da redução do vigor de sementes estão a redução da
252 velocidade de germinação e de crescimento, redução da porcentagem de germinação e o aumento da
253 taxa de anormalidade de plântulas. Logo, a qualidade fisiológica das sementes deve levar em conta
254 a formação de plântulas normais e vigorosas (AOSA, 2002; MARCOS FILHO, 2005), e a avaliação
255 conjunta de G%, IVG, TMG, associada aos parâmetros de desenvolvimento das plântulas, permite
256 inferir que o genótipo G4 apresenta maior vigor de sementes não envelhecidas (Antes EA), e o G8
257 apresenta maior vigor de sementes após o envelhecimento acelerado.

258 Os métodos de agrupamento UPGMA e de otimização de agrupamento de Tocher
259 representam técnicas eficientes para avaliar os indivíduos em vários aspectos e proporcionar uma
260 visão holística de cada genótipo (CRUZ et al., 2011).

261 Após a separação dos grupos por meio da análise de agrupamento UPGMA, com base nas 12
262 características de qualidade física e fisiológica das sementes não envelhecidas (Antes EA), os
263 genótipos foram separados em dois grupos, estabelecendo ponto de corte a 70% do nível máximo de
264 fusão, sendo o genótipo Caliman 01 (G4) representado em um grupo isolado (Figura 1A). Este
265 apresentou médias de PMS = 17,9, G = 94%, IVG = 2,3, PN = 98%, CPA = 4,8, CR = 1,6, e MF =
266 99. O outro grupo, formado pelos demais genótipos, apresentou médias de PMS = 14,3, G = 66,

267 3%, IVG = 1,3, PN = 82, 7%, CPA = 4,39, CR = 1,53, e MF = 58, e MS = 3,93. Logo, o genótipo
 268 Caliman 01 apresenta médias superiores que as médias dos demais genótipos para a grande maioria
 269 das características avaliadas.
 270



271
 272 **Figura 1.** Dendrograma UPGMA para dados físicos e fisiológicos de sementes de oito genótipos de
 273 mamoeiro. A - sementes não envelhecidas; B - sementes após o envelhecimento acelerado (43
 274 °C por 72 h).

275
 276 Nas sementes envelhecidas (EA), os genótipos também foram divididos em dois grupos
 277 (ponto de corte a 80% do nível máximo de fusão), sendo que o genótipo JS12 x Waimanalo (G8)
 278 apresentou-se num grupo isolado (Figura 1B), com médias de C = 5,18, D = 3,16, G = 84%, IVG =
 279 1,9, PN = 93%, CPA = 6,0, CR = 4,0, MF = 82 e MS = 3,5. O outro grupo, formado pelos demais
 280 genótipos, apresentou médias de C = 4,52, D = 2,82, G = 60,4%, IVG = 1,7, PN = 77,7%, CPA =
 281 3,87, CR = 1,39, MF = 53,7 e MS = 3,23. Assim, o genótipo JS12 x Waimanalo apresenta médias

282 superiores que as médias dos demais genótipos para a grande maioria das características avaliadas
283 após o envelhecimento.

284 Desta forma, dados relacionados a aspectos agronômicos, como a qualidade física e
285 fisiológica de sementes, avaliados quanto à divergência ou similaridade permite separar genótipos
286 com sementes de desempenho superior e inferior. Com base em análises multivariadas, Cardoso et
287 al. (2009), trabalhando com 30 genótipos de mamão constataram elevada divergência para atributos
288 relacionados à qualidade fisiológica de sementes entre os diferentes genótipos, separando-os com
289 base em seu desempenho germinativo.

290 Utilizando-se o método de otimização de agrupamento de Tocher (Tabela 4), para sementes
291 não envelhecidas (Antes EA) os genótipos foram separados em quatro grupos, sendo o genótipo
292 Caliman 01(G4) novamente sendo representado em um grupo isolado. As médias do grupo 4,
293 representado por este genótipo, foram superiores as médias dos demais grupos para as
294 características PMS = 17,9, G = 94%, IVG = 2,3, PN = 98%, e MF = 99. O grupo 1, representado
295 pelos genótipos Sunrise Solo (G5), Híbrido Triplo (G7) e Híbrido JS12 x Waimanalo (G8)
296 apresentou as seguinte médias: PMS = 14, 4, G = 67,7%, IVG = 1,47, PN = 80,7%, e MF = 57,3. O
297 grupo 2, representado pelos genótipos Caliman 01 geração F2 (G1); Tainung 01 geração F2 (G2):
298 PMS = 15, G = 66%, IVG = 1,3, PN = 78,5%, e MF = 53. E o grupo 3, representado pelos
299 genótipos Golden (G3) e THB (G6): PMS = 13,4, G = 64,5%, IVG = 1,15, PN = 89,5%, e MF = 64.
300

301 **Tabela 4.** Agrupamento baseado em caracteres morfológicos, pelo método de Tocher, de sementes
302 não envelhecidas (Antes EA) e após o envelhecimento acelerado (EA) (43 °C por 72 h), de
303 oito genótipos de mamoeiro.

| Antes EA | | |
|----------|-----------|-----------|
| Grupo | Sub-grupo | Genótipos |
| 1 | - | G5 G8 G7 |
| 2 | - | G1 G2 |
| 3 | - | G3 G6 |
| 4 | - | G4 |
| EA | | |
| Grupo | Sub-grupo | Genótipos |

| | | |
|---|-----|----------|
| 1 | 1.1 | G5 G6 G7 |
| | 1.2 | G1 G2 |
| | 1.3 | G4 |
| | 1.4 | G3 |
| 2 | - | G8 |

304

305 Para as características das sementes envelhecidas (EA), os genótipos foram agrupados em
306 dois grupos (Tabela 4), sendo que novamente o G8 (JS12 x Waimanalo) apresentou-se isolado dos
307 demais genótipos, apresentando médias superiores às médias dos demais grupos para a grande
308 maioria das características avaliadas (as médias entre os grupos 2 e 1 são as mesmas listadas
309 anteriormente, na descrição do método UPGMA).

310 As características físicas e fisiológicas das sementes foram usadas para as análises de
311 diversidade, que separaram em grupos isolados os genótipos G4 para sementes não envelhecidas, e
312 G8 para sementes envelhecidas. Para tanto, cada característica apresenta uma contribuição relativa
313 para a formação dos grupos (Tabela 5). Em sementes não envelhecidas o TMG foi a característica
314 de maior contribuição relativa, seguida de comprimento (C), umidade (U%) e comprimento da raiz
315 (CR). O índice de velocidade e o tempo médio de germinação trazem informações importantes para
316 a formação de um estande ideal de plantas (AOSA, 2002; MARCOS FILHO, 2005). Logo, a
317 elevada contribuição relativa da característica TMG na separação dos grupos, sugere que o maior
318 desempenho de sementes não envelhecidas tem relação direta com uma germinação mais rápida e
319 uniforme. Cabe ressaltar que, antes que a velocidade de germinação seja alterada, eventos
320 metabólicos já se encontram muito modificados, alterando a eficiência na síntese de compostos
321 essenciais à germinação (MARCOS FILHO, 2005), refletindo, assim, nos demais parâmetros
322 avaliados.

323

324 **Tabela 5.** Contribuição relativa (Cr%) das características físicas (U%, C, D, PMS) e fisiológicas
325 (G%, IVG, TMG, PN%, MF, MS, CR, CPA) de sementes não envelhecidas (Antes EA) e
326 após o envelhecimento acelerado (EA) (43 °C por 72 h), para a dissimilaridade genética de

327 oito genótipos de mamoeiro pelo método proposto por Singh (1981), baseado em D² de
328 Mahalanobis (S.j).

| Característica | Antes EA | | EA | |
|-----------------------|-----------------|------------|------------|------------|
| | S.j | Cr% | S.j | Cr% |
| U% | 1040.436 | 16.1927 | 2356.847 | 30.530 |
| C | 1168.246 | 18.1818 | 317.1577 | 4.1084 |
| D | 109.7266 | 1.70770 | 320.5556 | 4.1524 |
| PMS | 99.34296 | 1.54610 | 36.13977 | 0.4681 |
| G% | 104.7637 | 1.63050 | 39.34895 | 0.5097 |
| IVG | 502.5629 | 7.82160 | 159.6451 | 2.0680 |
| TMG | 1435.090 | 22.3348 | 0.438054 | 0.0057 |
| PN% | 77.79553 | 1.21080 | 126.3575 | 1.6368 |
| CPA | 371.9425 | 5.78870 | 153.6967 | 1.9909 |
| CR | 700.5241 | 10.9025 | 3586.503 | 46.459 |
| MF | 224.6176 | 3.49580 | 230.4287 | 2.9849 |
| MS | 203.6011 | 3.16870 | 84.49828 | 1.0946 |

329

330 Cardoso et al. (2009) utilizaram o método de Singh para avaliar a importância relativa das
331 oito variáveis utilizadas em análise de diversidade em mamoeiro, verificando que as variáveis que
332 mais contribuíram para a divergência foram massa de mil sementes (37,07%) e comprimento da raiz
333 (17,76%), e a característica que menos contribuiu foi a emergência (1,48%).

334 Na formação dos grupos das sementes envelhecidas, a característica de maior contribuição
335 relativa foi o comprimento de raiz (CR), seguido da umidade das sementes. Similarmente, outros
336 autores relataram ser o comprimento da raiz mais sensível para diferenciar vigor de sementes como
337 verificado em sementes de trigo (MAIA et al., 2007) e milho (VENÂNCIO et al., 2012), e separar
338 lotes de sementes, conforme observado em lotes de sementes de alface (NASCIMENTO;
339 PEREIRA, 2007) e de soja (VANZOLINI et al., 2007).

340 Durante o teste de envelhecimento acelerado, a inclusão de avaliações do crescimento das
341 plântulas e/ou sua velocidade pode contribuir para aprimorar a qualidade das informações obtidas,
342 diferente das avaliações inicialmente propostas para o teste, que contavam apenas com a
343 porcentagem de plântulas normais formadas e sobreviventes (MARCOS FILHO, 2005). A alta
344 contribuição relativa desta característica revela a importância da sua análise na avaliação do
345 desempenho de sementes de diferentes materiais genéticos.

346 As análises da diversidade genética permitem identificar e selecionar genitores com
347 características interessantes ao melhoramento genético (CRUZ et al., 2011). Neste caso, os testes de
348 médias (univariados), realizados para cada característica separadamente, indicam que as sementes
349 do G4 na condição de não envelhecidas (Antes EA), e do G8 para sementes envelhecidas (EA)
350 apresentaram maiores médias para inúmeras características, o que refletiu na separação destes
351 genótipos em grupos isolados baseado nas análises multivariadas. Assim, cada um destes genótipos
352 apresenta características germinativas, que indicam maior desempenho das sementes em
353 determinada condição.

354 Para determinar a influência das características introduzidas em novos cultivares sobre os
355 processos fisiológicos ou vitais, deve ser conhecido o desempenho de sementes dos diferentes
356 genótipos quanto à germinação e ao vigor. Logo, estudos como este trazem informações relevantes
357 do ponto de vista da propagação de mamoeiro, em virtude da escassez de referências sobre a
358 variabilidade dos caracteres relacionados à germinação e ao vigor, além do agrupamento de
359 materiais genéticos similares. Tais informações podem subsidiar a escolha de progenitores visando
360 à obtenção de genótipos de maior desempenho germinativo.

361

362 **CONCLUSÕES**

363

364 Em sementes não envelhecidas, o genótipo Caliman 01 apresenta maiores peso de mil
365 sementes, porcentagens de germinação e de plântulas normais, velocidade e homogeneidade de
366 germinação. Nesta condição, o genótipo Caliman 01 forma um grupo isolado, com médias
367 superiores aos demais genótipos, sendo que o tempo médio de germinação é a característica que
368 mais contribui para o agrupamento.

369 As sementes do genótipo Híbrido JS12 x Waimanalo externam maior vigor quanto
370 submetidas ao envelhecimento acelerado. Nesta condição, o genótipo Híbrido JS12 x Waimanalo

371 forma um grupo isolado, com médias superiores aos demais genótipos, sendo que o comprimento de
372 raiz é a característica que mais contribui para o agrupamento.

373 Os genótipos Caliman 01 e Híbrido JS12 x Waimanalo apresentam maior desempenho quanto
374 às características germinativas de sementes não envelhecidas e envelhecidas, respectivamente.

375

376 **AGRADECIMENTOS**

377

378 À Caliman Agrícola S/A pelo fornecimento do material vegetal. A CAPES e ao CNPq pela
379 concessão de bolsas de pós-graduação e de produtividade aos autores.

380

381 **REFERÊNCIAS**

382

383 ASSISTAT 7.6 BETA. **Assistat assistência estatística**. Campina Grande: DEAG-CTRN-UFCG,
384 2012.

385 ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. Lincoln:
386 AOSA, 2002. 105p. Contribution, 32.

387 BERBERT, P. A.; CARLESSO, V. A.; SILVA, R. F.; ARAÚJO, E. F.; THIÉBAUT, J. T. L.;
388 OLIVEIRA, M. T. R. Qualidade fisiológica de semente de mamão em função da secagem e do
389 armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 40-48, 2008.

390 BINOTTI, F. F. S.; HAGA, K. I.; CARDOSO, E. D.; ALVEZ, C. Z.; SÁ, M. E.; ARF, O. Efeito do
391 período de envelhecimento acelerado no teste de condutividade elétrica e na qualidade fisiológica
392 de sementes de feijão. **Acta Scientiarum: Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 2, p. 247-254, 2008.

393 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**.
394 Brasília: MAPA/DAS/ACS, 2009. 395p.

395 CARDOSO, D. L.; SILVA, R. F.; PEREIRA, M. G.; VIANA, A. P. Diversidade genética e
396 parâmetros genéticos relacionados à qualidade fisiológica de sementes em germoplasma de
397 mamoeiro. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 56, n. 5, p. 572-579, 2009.

398 CRUZ, Cosme Damião. **Programa GENES** – Aplicativo Computacional em Estatística e Genética.
399 Viçosa: UFV, 2006.

400 CRUZ, Cosme Damião; CARNEIRO, Pedro Crescencio Souza. **Modelos Biométricos Aplicados**
401 **ao Melhoramento Genético**. Viçosa: UFV, 2003. 585 p.

402 CRUZ, Cosme Damião; FERREIRA, Fábio Medeiros; PESSONI, Luiz Alberto. **Biometria**
403 **aplicada ao estudo da diversidade genética**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011, 620p.

404 DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C. C. Accelerated aging techniques for predicting the relative
405 storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, Wageningen, v. 1, n. 2, p. 427-452, 1973.

406 DIAS, D. C. F. S.; ESTANISLAU, W. T.; FINGER, F. L.; DIAS, L. A. S. Physiological and
407 enzymatic alterations in papaya seed during storage. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.
408 32, n. 1 p. 148-157, 2010.

409 HAMPTON, J. G. What is seed quality? **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 30, n. 1, p. 1-10,
410 2002.

411 HAMPTON, John G.; TeKRONY, Dennis M. **Handbook of vigour test methods**. Zürich: ISTA.
412 1995. 117p.

413 LABOURIAU, Luiz Fernando Gouvea. G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria
414 Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 174 p.

415 LOPES, A. W. P.; SELEGUINI, A.; BOLIANI, A. C.; CÔRREA, L. S. Estádio de maturação do
416 fruto e uso do ácido giberélico na germinação de sementes de mamoeiro. **Pesquisa Agropecuária**
417 **Tropical**, Goiânia, v. 39, n. 4, p. 278-284, 2009.

418 MAIA, A. R.; LOPES, J.C; TEIXEIRA, C. O. Efeito do envelhecimento acelerado na avaliação da
419 qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 3, p. 678-
420 684, 2007.

421 MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and
422 vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, p.176-177, 1962.

423 MARCOS FILHO, Julio. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ,
424 2005. 495p.

425 MARIN, S. L. D.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JR., A. T.; MARTELLETO, L. A. P.; IDE, C. D.
426 Heterosis in papaya hybrids from partial diallel of 'Solo' and 'Formosa' parents. **Crop Breeding and**
427 **Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 6, n. 1, p. 24-29, 2006a.

428 MARIN, S. L. D.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JR, A. T.; MARTELLETO, L. A. P.; IDE, C. D.
429 Partial diallel to evaluate the combining ability for economically important traits of papaya.
430 **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, n. 6, p. 540-546, 2006b.

431 MARTINS, G. N.; SILVA, R. F.; ARAÚJO, E. F.; PEREIRA, M. G.; VIEIRA, H. D.; VIANA, A.
432 P. Influência do tipo de fruto, peso específico das sementes e períodos de armazenamento na
433 qualidade fisiológica de sementes de mamão do grupo formosa. **Revista Brasileira de Sementes**,
434 Londrina, v. 27, n. 2, p. 12-17, 2005.

435 MELETTI, L. M. M; SAMPAIO, A. C.; RUGGIERO, C. Avanços na fruticultura tropical no brasil.
436 **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. especial, p. 73-75, 2011.

437 NASCIMENTO, W. M.; PEREIRA, R. Testes para avaliação do potencial fisiológico de sementes
438 de alface e sua relação com a germinação sob temperaturas adversas. **Revista Brasileira de**
439 **Sementes**, Londrina, v. 29, n. 3, p.175-179, 2007.

440 SANTOS, S. A.; SILVA, R. F.; PEREIRA, M. G.; ALVES, E. MACHADO, J. C.; BORÉM, F. M.;
441 GUIMARÃES, R. M.; MARQUES, E. R. Estudos morfo-anatômicos de sementes de dois genótipos
442 de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 116-122,
443 2009.

444 SARI, M.; MURNIATI, E.; SUHARTANTO, M. R. Pengaruh *sarcotesta* dan pengeringan benih
445 serta perlakuan pendahuluan terhadap viabilitas dan dormansi benih pepaya (*Carica papaya* L.).
446 **Jurnal Agronomi Indonesia**, Bogor, v. 3, n. 2, p. 23-30, 2005.

447 SERRANO, L. A. L.; CATTANEO, L. F. O cultivo do mamoeiro no Brasil. **Revista Brasileira de**
448 **Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 3, 2010.

449 SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian Journal**
450 **of Genetic and Plant Breeding**, New Dehli, v. 36, p. 237-245, 1981.

451 TOKUHISA, D.; SANTOS DIAS, D. C. F.; ALVARENGA, E. M.; SANTOS DIAS, L. A.;
452 MARIN, S. L. D. Tratamentos para superação da dormência em sementes de mamão. **Revista**
453 **Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 131-139, 2007.

454 TOKUHISA, D.; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, L. A. S.; MARIN, S. L. D.
455 Época de colheita dos frutos e ocorrência de dormência em sementes de mamão (*Carica papaya*
456 L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 75-80, 2008.

457 VANZOLINI, S.; ARAKI, C. A. S.; SILVA, A. C. T. M.; NAKAGAWA, J. Teste de comprimento
458 de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de**
459 **Sementes**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 90-96, 2007.

460 VENANCIO, L. P.; LOPES, J. C.; MACIEL, K. S.; COLA, M. P. A. Teste do envelhecimento
461 acelerado para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. **Enciclopédia Biosfera**,
462 Goiânia, v. 8, n. 14, p. 899-906, 2012.