

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MESTRADO**

**ASPECTOS DA BIOLOGIA FLORAL E REPRODUTIVA DE
DIFERENTES ACESSOS DE MAMOEIRO**

JACQUELINE ALVES BORGES FERREIRA

**CRUZ DAS ALMAS / BAHIA
2018**

ASPECTOS DA BIOLOGIA FLORAL E REPRODUTIVA DE DIFERENTES ACESSOS DE MAMOEIRO

Jacqueline Alves Borges Ferreira
Engenheira Agrônoma
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2015

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Fitotecnia).

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo
Coorientadora: Profa. Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza
Coorientador: Prof. Dr. Everton Hilo de Souza

**CRUZ DAS ALMAS / BAHIA
2018**

FICHA CATALOGRÁFICA

F383a Ferreira, Jacqueline Alves Borges.
Aspectos da biologia floral e reprodutiva de diferentes
acessos de mamoeiro / Jacqueline Alves Borges Ferreira. –
Cruz das Almas, BA, 2018.
100f.; il.

Orientador: Carlos Alberto da Silva Ledo.
Coorientadora: Fernanda Vidigal Duarte Souza.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do
Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias,
Ambientais e Biológicas.

1.Mamão – Melhoramento genético. 2.Mamão –
Biologia vegetal. 3.Propagação in vitro – Análise.
I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de
Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Souza,
Everton Hilo de. III.Título.

CDD: 634.651

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas – UFRB.
Responsável pela Elaboração – Antonio Marcos Sarmiento das Chagas (Bibliotecário – CRB5 / 1615).
Os dados para catalogação foram enviados pela usuária via formulário eletrônico.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MESTRADO**

**ASPECTOS DA BIOLOGIA FLORAL E REPRODUTIVA DE
DIFERENTES ACESSOS DE MAMOEIRO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
Jacqueline Alves Borges Ferreira**

Realizada em 30 de Maio de 2018

Prof. Dr^o. Carlos Alberto da Silva Ledo
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinador Interno (Orientador)

Profa. Dra. Lidyanne Yuriko Saleme Aona
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinador Interno

Dra. Hellen Cristina da Paixão Moura
Universidade Estadual do Norte. Fluminense Darcy Ribeiro
Examinador Externo

DEDICATÓRIA

À vida, por ser tão generosa comigo.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de registrar meus sinceros agradecimentos à todos os portos seguros que de forma direta ou indireta fizeram-me chegar até aqui.

À energia e o amor que habita em nossos corações e pensamentos, fortalecendo nosso ser, DEUS.

À toda minha família, minha mãe Neurides pelo incentivo e aos meus irmãos Victor e Michel pelo apoio diário, pela diversão nos finais de semana e por torcerem pelo meu sucesso acadêmico, eu amo vocês.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e ao Programa de Pós – Graduação em Ciências Agrárias. Tenho muito orgulho desta universidade que me proporcionou viver e concluir etapas incríveis: graduação, intercâmbio, e agora o mestrado, espero que seja breve o nosso reencontro.

À Embrapa Mandioca e Fruticultura pela parceria e por toda a estrutura fornecida para a realização dos experimentos deste trabalho, juntamente ao projeto Esalq/USP/Procad 2013.

A CAPES, pelo financiamento da minha bolsa de estudos. Acredito que o investimento na educação é a chave para o crescimento do nosso país. Espero ser capaz de retribuir à sociedade, de alguma forma, os conhecimentos adquiridos.

Ao meu orientador, Dr^o Carlos Ledo por ter aceitado me orientar, por acreditar nos meus sonhos, pelos conselhos, pelas críticas e pelos elogios, pela amizade. Muito obrigada!

Aos meus co-orientadores, Dr^a Fernanda Vidigal e Dr^o Everton Hilo por me proporcionar a oportunidade de desenvolver um trabalho incrível e tão importante para a cultura do mamoeiro. Obrigada por todo o apoio, por cada detalhe, pela paciência, pelo incentivo. Serei eternamente grata a vocês!

Ao pessoal do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa e aos estagiários que me acompanharam nas atividades de campo Ueslei, Lucas, Malena e em especial Mari Queiroz, vocês foram meu braço direito nos dias de avaliação sob sol e chuva. Eu agradeço a Deus a existência de vocês naqueles dias. Sucesso em suas carreiras!

Aos amigos verdadeiros que conheci em Cruz das Almas-BA, pela companhia, pelas viagens, pelo final de semana, pelas brincadeiras, por cada momento único e inesquecível. Fico sem palavras para agradecer a todos!

A todos vocês,
muito obrigada!

SUMÁRIO

Página

RESUMO

ABSTRACT

REFERENCIAL TEÓRICO..... 01

ARTIGO 1

MORFOLOGIA E VIABILIDADE DE GRÃOS DE PÓLEN EM DIFERENTES
ACESSOS DE MAMOEIRO (*Carica papaya*
L.)..... 23

ARTIGO 2

MORFOANATOMIA E RECEPTIVIDADE DOS ESTIGMAS EM DIFERENTES
ACESSOS DE MAMOEIRO (*Carica papaya*
L.)..... 49

ARTIGO 3

FENOLOGIA DO FLORESCIMENTO EM ACESSOS DO BANCO ATIVO DE
GERMOPLASMA DE MAMOEIRO E IMPLICAÇÕES PARA O MELHORAMENTO
GENÉTICO..... 67

CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 90

ANEXOS..... 91

ASPECTOS DA BIOLOGIA FLORAL E REPRODUTIVA DE DIFERENTES ACESSOS DE MAMOEIRO

Autora: Jacqueline Alves Borges Ferreira

Orientador: Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo

RESUMO: O mamoeiro (*Carica papaya* L.), apesar de ser considerado uma frutífera de grande importância econômica para o agronegócio nacional e internacional, ainda possui limitado número de cultivares desenvolvidas, principalmente adaptadas às grandes regiões produtoras. Dentre as ações de pesquisa que fazem parte de um programa de melhoramento genético, estão os estudos sobre a biologia floral e reprodutiva de potenciais parentais em hibridações de interesse. Este trabalho teve como objetivo avaliar a morfologia e viabilidade de grãos de pólen, a morfoanatomia e receptividade de estigmas em 10 acessos de mamoeiro potencialmente promissores da espécie *C. papaya* L., assim como avaliar a fenologia do florescimento de acessos de mamoeiro pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura-BA. Foi possível constatar que não houve diferença significativa para germinação *in vitro* dos grãos de pólen (%) nas fases: pré-antese, antese e pós-antese, por meio do teste Scott-Knott ($p < 0,01$). Os testes histoquímicos superestimaram os resultados, ainda que, o corante alexander seja mais eficiente e fiel no que diz respeito à estimativa da viabilidade polínica quando comparado ao corante carmim acético. Já a receptividade estigmática esteve presente antes mesmo da abertura floral, permanecendo com maior intensidade na antese e pós-antese. Os acessos avaliados apresentaram características semelhantes quanto à morfologia do grão de pólen e morfoanatomia do estigma, porém cada acesso apresentou sua particularidade diferindo-se um do outro em detalhes botânicos específicos. Correlações específicas entre dados climáticos e taxas de florescimento demonstraram que o pico de floração para a maioria dos acessos de mamoeiro acontece nos meses de junho e julho, quando é inverno e as plantas produzem em média cerca de 4 a 5 flores por semana.

Palavras chave: *Carica papaya* L., morfoanatomia, germinação *in vitro* de grãos de pólen, histoquímica, receptividade do estigma, época de florescimento.

ASPECTS OF FLORAL AND REPRODUCTIVE BIOLOGY OF DIFFERENT PAPAYA ACCESS

Author: Jacqueline Alves Borges Ferreira
Adviser: Dr. Carlos Alberto da Silva Ledo

ABSTRACT: The papaya (*Carica papaya* L.), although considered a fruit crop of great economic importance for national and international agribusiness, still present a limited number of cultivars, mainly adapted to different producing areas. Among the research actions that are part of a breeding program are studies on the floral and reproductive biology of parental potentials in hybridizations of interest. The objective of this work was to evaluate the morphology and viability of pollen grains, the morphoanatomy and receptivity of stigmas in 10 potentially promising papaya L. accessions of papaya L. as well as to evaluate the flowering cycles of papaya accessions belonging to the Germplasm of Embrapa Cassava and Fruticultura-BA. It was possible to verify that there was no significant difference for the in vitro germination of the pollen grains (%) in the phases: pre-anthesis, anthesis and post-anthesis, using the Scott-Knott test ($p < 0.01$). In addition, the alexander dye became more efficient and faithful with respect to the estimation of the pollen viability when compared to the acetic carmine dye. The stigmatic receptivity was present even before the floral opening, remaining with greater intensity in the anthesis and post-anthesis. The evaluated accesses presented similar characteristics regarding the morphology of the pollen grain and morphology of the stigma, however each access presented its particularity differing from each other in specific botanical details. Specific correlations between climatic data and flowering rates have shown that the peak flowering for most accessions of papaya occurs in the months of June and July, when it is winter and the plants produce about 4 to 5 flowers per week.

Key words: *Carica papaya* L., morphoanatomy, in vitro germination of pollen grains, histochemistry, stigma receptivity, flowering season.

REFERENCIAL TEÓRICO

O MAMOEIRO (*Carica papaya* L.)

O mamoeiro pertence à família Caricaceae Dumort. da ordem Brassicales, incluindo seis gêneros e 35 espécies (ARADHYA et al., 1999; VAN DROOGENBROECK et al., 2004; KUBITZKI, 2003; OECD, 2005). A maioria dos gêneros, como por exemplo, *Jacaratia* A.DC. (7 spp.), *Jarilla* Rusby (3 spp.) e *Horovitzia* V.M.Badillo (1 sp.) ocorre principalmente em regiões de florestas neotropicais da América do Sul e América Central. No entanto, *Cylicomorpha* Urb. (2 spp.) é encontrado em regiões de florestas montanhosas da África equatorial. O gênero *Vasconcellea* A.St.-Hil. é composto por 21 espécies e é considerado o parente mais próximo do gênero *Carica* L. que possui em sua classificação somente a espécie *Carica papaya* L. (BADILLO, 1993).

C. papaya L., popularmente conhecida como mamoeiro, é uma espécie de caule semi-herbáceo, ou seja, sutilmente arborizado, porém não ramificado, de porte médio-alto que pode variar de 2 a 10 m de altura, com caule afunilado a partir de 10 a 30 cm de largura da base, tornando-se oco com o envelhecimento. A planta possui folhas grandes e longas, alternadas em forma de espiral até a parte superior do caule (ELIAS, 1980; OECD, 2005). Seus frutos apresentam tamanhos variados e são classificados como ovoides, esféricos ou piriformes.

C. papaya L. é a única espécie da família conhecida comercialmente, não somente pela produção de frutos destinados ao consumo *in natura* nacional e internacional, mas também porque a espécie produz a enzima papaína, que é utilizada em processos industriais alimentares e farmacêuticos (COSTA; PACOVA, 2003; CARVALHO et al., 2015).

Apenas quatro variedades de *C. papaya* L., distribuídas entre dois grupos principais, são facilmente encontradas no mercado brasileiro. O grupo 'Solo' é representado pelas linhagens 'Golden' e 'Sunrise Solo', que possuem frutos geralmente de tamanho pequeno com peso variando de 300 a 650 g, além de possuir como principal característica a coloração da polpa avermelhada, destinados basicamente à exportação. E o grupo 'Formosa', composto pelos

híbridos 'Tainung nº1' e 'Calimosa', com frutos de tamanho maior e peso variando entre 1,0 a 1,3 kg apresentando coloração da polpa em tons de laranja-avermelhada, destinados à comercialização nacional e também à exportação (DIAS et al., 2011).

A produtividade do mamoeiro está associada à vários fatores, com destaque especial para a disponibilidade de água, temperatura e umidade relativa do ar. Por se tratar de uma frutífera de origem tropical, o mamoeiro adapta-se melhor às condições de clima caracteristicamente quente e úmido. Por isso, as condições climáticas tornam-se ideais quando a temperatura varia de 22 a 26 °C, pluviosidade de 1.800 a 2.000 mm anuais, umidade relativa do ar de 60 % a 85 % e altitudes de até 200 m acima do nível do mar, associadas também ao tipo de solo não muito argiloso e pouco profundo (EMBRAPA, 2009).

Mundialmente, a produção de mamão atingiu 12,6 milhões de toneladas em 2014, tendo como principais produtores em ordem decrescente: Índia, Brasil, Indonésia, Nigéria e México. O Brasil desde 2015 é considerado o segundo maior produtor, com 12,7 % da produção mundial (FAOSTAT, 2018a).

A Bahia é o estado que mais produz mamão no Brasil e em 2015 alcançou a marca de aproximadamente 723.582 toneladas, ficando responsável por 49,43 % de toda a produção brasileira. O Espírito Santo é o segundo maior estado produtor, com cerca de 361.270 toneladas de frutos de mamoeiro. Esses dois Estados juntos são responsáveis por aproximadamente 74 % de toda a produção nacional (IBGE, 2018).

Nos anos 80, o cultivo de mamoeiro no Brasil deixou de estar concentrado nos Estados de São Paulo e Pará e passou a se concentrar basicamente no nordeste brasileiro. Visando o plantio em novas áreas isentas de doenças, esta região tornou-se responsável por cerca de 64 % de toda a produção nacional em 2015 (IBGE, 2018) assegurando a estabilidade e rentabilidade da cultura no país.

Dentre as principais patologias do mamoeiro, destacam-se o vírus do mosaico (*Papaya mosaic virus* - PapMV), vírus da mancha anelar (*Papaya ringspot virus* - PRSV), vírus da meleira (*Papaya sticky disease virus* - PSDV), varíola ou pinta preta (*Asperisporium caricae* Speg. Maubl.), podridão do pé (*Phytophthora palmivora* (Butler) Butler, anteriormente referido como

Phytophthora parasítica Dastur), antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) e oídio (*Oidium caricae* J.M. Yen) (EMBRAPA, 2009).

As pulverizações periódicas e pouco criteriosas para o controle de pragas e doenças do mamoeiro, juntamente com a sensibilidade da planta à diversos agrotóxicos, podem, além de causar grandes problemas ambientais e para a saúde humana, ocasionar injúrias às folhas e aos frutos, levando, em casos extremos, à morte da planta e até mesmo podendo reduzir a taxa de polinização e fertilização (VIEIRA et al., 2001). Isso porque, o percentual de germinação de grãos de pólen e crescimento do tubo polínico podem ser afetados por diferenças de potencial osmótico encontrado entre os produtos aplicados e as plantas, conferindo menor produção de frutos e sementes (GENTILE et al., 1973; ABBOTT et al., 1991).

Medidas de controle contra patógenos devem ser adotadas de maneira eficiente, evitando perdas de frutos *in natura* principalmente os destinados à exportação, o que pode diminuir a rentabilidade no mercado interno e a sustentabilidade do agronegócio no país, prejudicando também a vida dos trabalhadores rurais, isso porque, a produção do mamoeiro ocorre durante todo o ano, necessitando ao longo do tempo de manutenção das lavouras, o que gera empregos e absorve mão de obra permanentemente.

Melhoramento genético do mamoeiro

Segundo Dantas e Oliveira (2009), programas de melhoramento genético enfrentam grandes desafios porque características de interesse não estão reunidas em um único genótipo. No cultivo de mamoeiro, por exemplo, as principais características de interesse são: alta produtividade, frutificação precoce, porte baixo, menor número de flores com anomalias (estéries, carpelóides ou pentândricas), alto grau brix de frutos, casca fina com ausência de manchas, resistência mecânica dos frutos ao armazenamento e transporte, cavidade interna pequena e com formato estrelar, polpa espessa, além de possuir resistência às principais doenças.

Dentre as instituições brasileiras com maior expressão em pesquisas de melhoramento genético do mamoeiro estão a Universidade Estadual Norte

Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) no Rio de Janeiro, a Embrapa Mandioca e Fruticultura na Bahia, e o Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural (INCAPER) no Espírito Santo.

Atualmente a Embrapa Mandioca e Fruticultura possui um Banco Ativo de Germoplasma (BAG Mamão) (Anexo 1 - Croqui), com cinco espécies: (*C. papaya* L., *V. cauliflora*, *V. quercifolia*, *V. monoica* e *J. spinosa*), distribuídas em 101 acessos de *C. papaya* L., 2 acessos de *V. cauliflora*, 3 acessos de *V. quercifolia*, 2 acessos de *V. monoica* e 11 acessos de *J. spinosa*. Todos os 119 acessos estão dispostos em fileiras com onze plantas, no espaçamento 3,0 m x 2,0 m em condições de campo. As sementes coletadas são armazenadas em câmara fria (10 °C) para renovação do plantio a cada dois anos. A partir de 1995, trabalhos relacionados à autofecundação de alguns acessos disponíveis neste Banco Ativo de Germoplasma, em Cruz das Almas-BA, permitiram a formação de uma coleção de linhagens e híbridos superiores (DANTAS et al., 2015).

O site USDA do Sistema Nacional de Germoplasma dos Estados Unidos da América, localizado em Hilo, no Havaí, possui diversos acessos de *C. papaya* e *Vasconcellea* spp.. Em nível mundial são conhecidas ainda as coleções da Universidade Nacional Medellín e Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA), ambos localizados na Colômbia (GIACOMETTI et al., 1987). O Serviço de Recursos Genéticos de Sementes e Plantas (AGPS) da FAOSTAT possui uma lista de quase 90 estações de pesquisa e locais que cultivam germoplasma de mamoeiro (BETTENCOURT et al., 2003; FAOSTAT, 2018b).

O melhoramento genético do mamoeiro ocorre principalmente por meio do cruzamento de variedades entre dois grupos heterozigotos como forma de explorar a variabilidade, mesmo assim, a base genética do mamoeiro é considerada estreita, devido principalmente ao pequeno número de cultivares desenvolvidas, especialmente para as condições das regiões produtoras (DANTAS; LIMA, 2001). O Brasil desenvolveu seu primeiro híbrido de mamoeiro em 2002 por meio da parceria entre a empresa Caliman Agrícola S.A e a Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF) no Rio de Janeiro. Esse híbrido foi resultado de um cruzamento entre um progenitor do grupo 'Formosa' e

outro do grupo 'Solo' e é então denominado 'Caliman 01' e conhecido popularmente como 'Calimosa' (EMBRAPA, 2009).

O melhoramento genético vegetal tem como objetivo primordial a obtenção de cultivares superiores, com características desejáveis, a partir da seleção de genótipos em cruzamentos controlados (TECHIO et al., 2006). Dentre as ações de pesquisa que fazem parte de um programa de melhoramento genético, estão os estudos sobre a biologia floral e reprodutiva de potenciais parentais em hibridações de interesse. Estes estudos incluem desde as interações entre flores e meio ambiente, comportamento de florescimento, morfologia e viabilidade de grãos de pólen, estigma e receptividade, assim como o próprio sucesso reprodutivo.

Essas informações além de ampliar o entendimento sobre compatibilidade, sincronia de florescimento, dentre outros aspectos relevantes para o melhoramento, fornecem subsídios básicos para a exploração racional da espécie e seleção das melhores formas de conservação e métodos de melhoramento genético (MARTÉN; QUESADA, 2001; LEE et al., 2006).

ASPECTOS DA BIOLOGIA FLORAL E REPRODUTIVA

O mamoeiro é uma planta de sistema reprodutivo autógama e é considerada dioica e polígama (trioica), ou seja, dependendo da variedade, há presença de flores masculinas, femininas e/ou hermafroditas (OLIVEIRA et al., 2007a). De acordo com Horovitz (1954) as populações oriundas destes diferentes tipos de indivíduos se distinguem em: populações dioicas, constituídas de plantas com flores somente femininas e plantas com flores somente masculinas; populações ginoicas-andromonoicas, constituídas de plantas com flores femininas e flores hermafroditas; e populações andromonóicas trióicas: constituídas por indivíduos com flores masculinas, femininas e hermafroditas.

Flores masculinas ou estaminadas (Figura 1a) possuem formato de trompete de aproximadamente 2,5 cm de comprimento, possuindo no seu ápice cinco pétalas e dez estames funcionais unidos em dois grupos, ou seja, cinco estames superiores e cinco inferiores. O ovário é ausente, porém em alguns casos pode estar presente tornando-se rudimentar não funcional, além de não

apresentar estigmas. Flores femininas ou pistiladas (Figura 1c) apresentam ovário de formato arredondado com inúmeros óvulos, se afunilando para o ápice onde surgem cinco estigmas em forma de leque. A flor hermafrodita típica/elongata (Figura 1b), no entanto, apresenta ovário maior ao da flor feminina, alongado, com cinco lóbulos estigmáticos no ápice e dez estames funcionais, cinco superiores e cinco inferiores (HOROVITZ et al., 1953).



Figura 1. Tipos de flores de *C. papaya* L. a) flor masculina; b) flor hermafrodita alongada; c) flor feminina.

Por meio da polinização artificial é possível prever quais são as porcentagens do sexo das plantas a partir de quatro tipos de cruzamentos (Tabela 1). Uma planta feminina fertilizada com grãos de pólen de uma planta hermafrodita consegue originar aproximadamente 1/2 de sementes femininas e 1/2 de sementes hermafroditas. Uma planta hermafrodita autopolinizada, produz em média 2/3 de sementes hermafroditas e 1/3 de sementes femininas; enquanto que uma planta hermafrodita hibridada com uma masculina origina 1/3 de sementes hermafroditas, 1/3 de femininas e 1/3 masculinas. Já o cruzamento entre uma planta feminina e outra masculina, por sua vez, dá origem à metade das sementes femininas e outra metade masculina (REYES, 1981; OLIVEIRA et al., 2007b).

Tabela 1. Porcentagem aproximada da herança genética do sexo em mamoeiro, adaptada de REYES, (1981); OLIVEIRA et al., (2007b).

Tipos de cruzamento	Hermafrodita	Feminina	Masculina
Feminina x Hermafrodita	50%	50%	0%
Hermafrodita x Hermafrodita	66%	33%	0%

Hermafrodita x Masculina	33%	33%	33%
Feminina x Masculina	0%	50%	50%

A expressão sexual nas plantas de mamoeiro é controlada por um único gene, com três formas alélicas (m, M1 e M2). As plantas femininas são geneticamente homozigotas para o alelo m e as plantas masculinas e hermafroditas são heterozigotas para os alelos M1 e M2, respectivamente, podendo haver as seguintes combinações: mm (plantas femininas), M1m (plantas masculinas) e M2m (plantas hermafroditas). As combinações M1M1 e M2M2 não existem porque são letais zigóticos (HOFMEYR, 1967).

Definir o sexo das flores é importante, pois antecipa o conhecimento sobre o formato do fruto a ser desenvolvido. Plantas que são originalmente masculinas possuem ovário rudimentar, que em alguns casos, pode tornar-se funcional, produzindo, neste caso, frutos com diferentes graus de deformação. Plantas femininas dão origem aos frutos arredondados e ovalados, com cavidade interna grande e espessura da polpa fina, além disso, não possuem uniformidade de tamanho, tornando-se características pouco aceitas pelos consumidores brasileiros. Já as plantas hermafroditas desenvolvem frutos com maior valor comercial, sendo estes, alongados e piriformes, com cavidade interna menor e espessura da polpa maior (COSTA; PACOVA, 2003; MING et al., 2007).

O pouco conhecimento sobre os tipos de flores do mamoeiro nos plantios comerciais permite que haja presença de um número elevado de plantas masculinas e femininas, que dão origem aos frutos sem valor comercial. Este fato representa uma redução acentuada na produtividade do pomar (FILHO, 2016). De forma geral, as plantas masculinas e femininas são encontradas somente em pomares domésticos, ou em locais isolados e são conhecidas popularmente como “mamão-de-quintal”.

A propagação do mamoeiro ocorre principalmente por sementes, e a identificação do sexo das plantas acontece somente a partir do primeiro florescimento, aproximadamente de 3 a 4 meses após o transplante das mudas para o campo. Para aumentar as chances de ter pelo menos uma planta hermafrodita na cova, são plantadas três mudas na mesma cova. Quando as flores são então identificadas, é realizado o processo de sexagem, uma técnica

que consiste em manter apenas uma planta na cova, de preferência hermafrodita, responsável por produzir o tipo de fruto comercialmente aceito pelos consumidores brasileiros (DIAS et al., 2011).

Anomalias florais

Segundo Couto e Nacif (1999) a quantidade de flores hermafroditas no mamoeiro pode variar devido aos fatores e estímulos externos, principalmente em determinadas condições ambientais. Flores hermafroditas normais, podem, sob condições de altas temperaturas, estresse hídrico e baixos níveis de nitrogênio, associado também a influência de diversas causas genéticas, transformar-se em estéreis, apresentando o ovário abortado ou rudimentar, tornando-se essencialmente flores masculinas funcionais. Esse fenômeno é denominado reversão sexual e é popularmente conhecido como “esterilidade de verão” ou “esterilidade feminina”.

Já em condições de baixas temperaturas, associadas aos altos níveis de umidade e nitrogênio no solo, as flores hermafroditas podem dar origem a frutos carpelóides conhecidos popularmente como “cara de gato”. Frutos carpelóides são impróprios para a comercialização pois apresentam um tipo de deformação provocada pela transformação dos estames das flores hermafroditas em carpelos. Este processo ocorre durante o primeiro período de desenvolvimento da flor, de modo que carpelos normais, juntamente com o ovário, são suprimidos em diferentes graus de desenvolvimento (ARKLE JR; NAKASONE, 1984).

As flores hermafroditas podem ainda sofrer outro tipo de anomalia, na qual podem ser transformadas em flores hermafroditas pentândricas, apresentando cinco estames funcionais em vez de dez. Os frutos desenvolvidos por esse tipo de flor anormal são caracteristicamente arredondados, com cinco sulcos longitudinais profundos, inconfundíveis ao olho nu e fora do padrão comercial (COUTO; NACIF, 1999).

Sendo assim, anomalias como a “esterilidade de verão”, geralmente ocorrem nos meses mais quentes do ano, enquanto que as taxas de carpeloidia e pentandria, aumentam nos meses mais frios do ano.

Segundo Costa et al., (2003) a utilização de irrigação por aspersão, por exemplo, contribui para redução da taxa de reversão sexual devido a formação de um microclima, e elevação da umidade relativa do ar entre as plantas cultivadas.

Viabilidade de grãos de pólen

Grãos de pólen são estruturas que carregam no seu interior gametófitos, ou seja, células sexuais masculinas, essenciais para que ocorram cruzamentos, fecundação/ fertilização e para o melhoramento genético de variedades. A frutificação nas plantas, por exemplo, dependerá da eficiência dos grãos de pólen, além do estigma, e outros fatores, como as condições ambientais (GILLASPY et al., 1993).

A viabilidade polínica é considerada uma medida de fertilidade masculina, responsável por tornar possível a fecundação e a realização de cruzamentos entre genótipos de potencial econômico agrícola (SOARES et al., 2011). Sendo assim, quanto mais alta for a viabilidade, em teoria, maior será o sucesso da fertilização (MARTINS et al., 2012). O conhecimento sobre a viabilidade dos grãos de pólen e a forma como ela pode ser aferida torna-se crucial também para o desenvolvimento de novos trabalhos de conservação, principalmente os de criopreservação (SILVA et al., 2017).

A quantidade e viabilidade de grãos de pólen em *C. papaya* L. podem variar a depender da cultivar e também da época do ano, havendo uma redução desses parâmetros principalmente no inverno e início de primavera, quando ocorre aumento da umidade relativa do ar e conseqüentemente, presença de umidade nas anteras (GARRETT, 1995).

Uma das técnicas mais utilizadas para se verificar a viabilidade polínica em diferentes espécies agrícolas é por meio da germinação *in vitro*, em que o próprio grão de pólen promoverá formação e crescimento de uma estrutura alongada denominada tubo polínico (NOGUEIRA et al., 2015). Para a realização desta técnica, um meio de cultura composto por elementos orgânicos e inorgânicos deve ser preparado e ajustado, na intenção de assemelhar-se às condições oferecidas pela estrutura feminina da flor ao receber os grãos de pólen no campo. De acordo com Taylor & Helpler (1997), vários fatores como temperatura, período

de incubação e presença de micro e macronutrientes podem influenciar o sucesso da germinação *in vitro*.

Em condições de campo, a viabilidade dos grãos de pólen é testada por meio da realização de cruzamentos controlados (germinação *in vivo*) e posterior avaliação da frutificação efetiva (GALETTA, 1983). Ainda que este método seja o mais eficiente e confiável, requer mão de obra com conhecimento especializado e maior tempo para execução, além de depender de condições favoráveis de campo. A viabilidade polínica pode ser testada também por métodos colorimétricos utilizando diversos corantes específicos (SHIVANNA; RANGASWAMY, 1992; KEARNS; INOUE, 1993).

Dentre os corantes mais utilizados para determinação da viabilidade polínica estão o carmim acético, sudan IV, iodeto de potássio, lugol, azul de anilina e azul de algodão, alexander, diacetato de fluoresceína (FDA) (STANLEY; LINSKENS, 1974; KEARNS; INOUE, 1993), e o 2,3,5-cloreto-de-trifeniltetrazólio (TTC) (SHIVANNA; RANGASWAMY, 1992). Em testes histoquímicos, a viabilidade é medida por meio da diferença de colorações entre grãos de pólen viáveis e não viáveis.

Estes corantes reagem de diversas formas nas estruturas celulares dos grãos de pólen. O carmim acético indica a integridade cromossômica do pólen, enquanto a solução de sudan IV indica a presença de lipídios, e a solução com lugol indica a presença de amido. Já a solução de alexander contém fucsina ácida e verde de malaquita que reagem, respectivamente, com o protoplasma e a celulose da parede do grão de pólen (KEARNS; INOUE, 1993; MUNHOZ, et al. 2008). Além destes, vale destacar também o 2,3,5-cloreto de trifeniltetrazólio (TTC), que indica a presença de enzimas ativas chamadas 'desidrogenases', envolvidas nas atividades respiratórias dos tecidos e o FDA que se baseia na medição da atividade esterásica, que acontece nas células vivas (CLARKE et al., 2001).

Apesar de serem procedimentos simples, rápidos, relativamente baratos e largamente usados, vários autores afirmam que a maioria desses testes não se adequam para estimar de forma a reproduzir realmente a viabilidade polínica (RODRIGUES-RIANO; DAFNI, 2000), já que não fornecem informações sobre a capacidade germinativa dos grãos de pólen (SOARES et al., 2008), ainda que

devem ser considerados como informações complementares para se aferir a integridade do pólen.

Em vista disso, os testes mais recomendados para medir a viabilidade polínica são os que podem ser realizados *in vitro*, desde que se tenha estabelecido o meio de cultura mais adequado para a espécie estudada, assim como o teste *in vivo*, que é o mais determinante para a avaliação da real viabilidade do pólen.

Receptividade do estigma

O estigma é uma região especializada com a função de receber, reter e nutrir os grãos de pólen provenientes das anteras. Assim como os gametófitos, estudos direcionados ao estigma são de fundamental importância pois ambos, são responsáveis pelo sucesso ou insucesso da fertilização, favorecendo ou prejudicando o início da produção de frutos (GALEN et al., 1987).

A taxa de fertilização está diretamente ligada à receptividade do estigma, que pode ser influenciada por diversos fatores como, por exemplo, estágio da flor, período do dia e presença ou ausência de exsudato, líquido rico em proteínas que sai através das membranas e paredes celulares (DUMAS et al., 1984). Além disso, a baixa umidade relativa do ar, em alguns casos, pode promover a dessecação da superfície externa das papilas estigmáticas provocando o colapso do estilete antes mesmo do tubo polínico alcançar o ovário, impedindo, assim a formação de sementes (LAYNE, 1983).

No mamoeiro, a receptividade do estigma é elevada mesmo em diferentes épocas do ano, podendo ser observada em flores femininas e hermafroditas, geralmente antes e depois da antese (abertura floral). No entanto, segundo alguns autores, a maior receptividade é verificada logo após a antese, principalmente nas flores hermafroditas que permanecem receptivas cerca de dois dias após sua abertura floral (COUTO et al., 1999; DAMASCENO JÚNIOR et al., 2009).

A receptividade do estigma pode ser medida de várias maneiras. O uso de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é uma das estratégias mais utilizadas, já que é de fácil condução e aplicabilidade, além de proporcionar resultado imediato e de

baixo custo. Esta solução possui em sua composição, enzimas 'peroxidases' que agem sobre o estigma receptivo e em consequência, formam bolhas de ar, que podem ser observadas facilmente a olho nu (KEARNS; INOUE, 1993).

Outras metodologias também são descritas, como por exemplo, a reação de benzidina + peróxido de hidrogênio (DAFNI et al., 1998), que confere ao estigma receptivo uma coloração azul escuro, além de favorecer o surgimento de bolhas de ar, facilmente visualizadas a olho nu devido a presença de enzimas peroxidases, oriundas da solução de peróxido de hidrogênio. Por outro lado, a reação de α -naftil-acetato com fast blue B salt é a técnica mais confiável, ainda que seja de custo elevado, e se baseia na reação de esterase por enzimas esterásicas evitando o resultado falso-positivo, evidenciando uma coloração preta ou escurecida nos estigmas receptivos (KEARNS; INOUE, 1993).

Condições ambientais e floração

Segundo Júnior (2002), a planta inicia a floração, ainda quando está em processo de desenvolvimento foliar, pelo crescimento da bráctea, estrutura que tem por objetivo proteger a inflorescência, prosseguindo posteriormente para o desenvolvimento dos botões florais e amadurecimento das flores.

A abertura floral nas plantas é um fenômeno natural que ocorre na fase da antese, ou seja, após passada a fase de expansão completa (pré-antese), até a fase que aparentemente já ocorreu a liberação do pólen (pós-antese). A pós – antese consiste na fase em que as anteras apresentam a coloração escura, os estames parcialmente murchos e as flores com aspecto descolorido (ERNANI, 2002).

Diversas condições ambientais como por exemplo, o clima, podem influenciar no florescimento e início da antese, antecipando ou atrasando a floração em relação à época prevista. Plantas desenvolvidas em baixas temperaturas podem florescer devido ao estímulo produzido pelo fitocromo que reage de acordo com a duração do dia favorecendo a emissão de brotos, mas, geralmente essas plantas desenvolvem estruturas de proteção à gema, reduzindo sua capacidade de florescer. Em épocas de chuvas intensas e carregadas, as floradas também sofrem uma redução da taxa de floração (RAVEN, 2001).

Como na maioria das plantas C3, o mamoeiro assimila CO₂ para o seu desenvolvimento a depender da intensidade da radiação solar, sendo o ponto de saturação em torno de 1000 mmol.m⁻².s⁻¹ fótons. Nos trópicos, em dias ensolarados, o fluxo de fótons torna-se superior a 2000 mmol.m⁻².s⁻¹. Quando o mamoeiro é cultivado à sombra, onde o fluxo de fótons é reduzido, as plantas se tornam menos desenvolvidas, com menor quantidade de folhas, flores, e conseqüentemente menor produtividade (DANTAS, CASTRO NETO, 2000).

A intensidade de florescimento do mamoeiro pode estar associado tanto às condições ambientais, como às condições genéticas. As informações sobre interações planta X meio ambiente em diferentes épocas do ano, permitem o desenvolvimento de estratégias que possam contribuir na realização de novos cruzamentos, assim como subsidiar trabalhos que envolvam a conservação do grão pólen.

Polinização e formação de frutos

A polinização no geral é um dos processos responsáveis pela manutenção e condução de diversas culturas agrícolas, que se realizada de maneira eficiente aumenta as chances de pegamento dos frutos, além de contribuir para a melhoria da qualidade dos mesmos por meio da redução das taxas de deformação. Pode encurtar o ciclo vegetativo de certas culturas agrícolas e favorecer a uniformidade no amadurecimento dos frutos reduzindo perdas na colheita e pós-colheita, além de contribuir para a melhoria da qualidade fisiológica das sementes produzidas (NASCIMENTO, 2012).

Na natureza, a polinização pode ocorrer de duas formas: cruzada, quando ocorre entre flores de plantas diferentes da mesma espécie, ou por meio da autopolinização, quando a transferência do pólen para o estigma ocorre na própria flor ou em flores da mesma planta. Agentes polinizadores como o vento (anemofilia), os insetos (entomofilia), o próprio homem, outros animais (zoofilia) e a água (hidrofilia) agem de forma a facilitar a polinização através do transporte e condução do pólen até o estigma (MARCOS FILHO, 2005).

Um mamão com 1.000 sementes, por exemplo, indica que 1.000 grãos de pólen viáveis teriam sido depositados em um estigma receptivo, provavelmente

por agentes polinizadores, já que na espécie, o vento tem pouca ou quase nenhuma interferência no processo de facilitação da fertilização/polinização (GARRETT, 1995). Além disso, estima-se que aproximadamente 73% das espécies vegetais cultivadas no mundo sejam polinizadas por algum tipo de abelha (FREITAS, 2005). No Brasil, o grão de pólen de mamoeiro é um dos alimentos mais procurados pela abelha *Trigona williana* Friese durante todo o ano (MARQUES-SOUZA et al., 1996).

Sendo assim, se a polinização controlada nas plantas for ineficiente, a produtividade se torna baixa, apresentando frutos com tamanho e formato desuniformes. Já se a polinização for aberta, fatores como maior ou menor abundância /eficiência dos agentes polinizadores podem influenciar diretamente a produção de frutos comercializáveis (BORGES; MARTINS, 1998).

Partenocarpia

A qualidade dos frutos e a produtividade do mamoeiro além de estarem relacionadas ao tipo de polinização podem estar associadas também ao mecanismo de partenocarpia (reprodução assexuada) (RODRIGUEZ-PASTOR et al., 1990, LOUW, 2000, OECD, 2003).

A partenocarpia compreende o processo pelo qual há o desenvolvimento de frutos sem a necessidade de polinização e fecundação, dando origem aos frutos com pouquíssimas sementes (PERUQUETTI, 2017).

Garrett (1995) demonstrou que os frutos partenocarpicos em mamoeiro podem ser produzidos, ainda que em frequências muito baixas, apresentando tamanho e qualidade inferior, quando comparados aos frutos originados através da reprodução sexual.

Rodriguez-Pastor et al., (1990), demonstraram que a partir do cruzamento controlado em flores hermafroditas de 'Sunrise Solo', foi possível constatar que 35 % dos frutos originados são partenocárpicos e cerca de 65 % oriundos da autopolinização, enquanto que o cruzamento em 'Kapoho Solo' não produziu nenhum fruto por partenocarpia. Além disso, o autor observou que é pequeno o número de sementes produzidas por esse tipo de fruto e que apenas cerca de 4 % delas são viáveis, a depender da variedade.

Em vista do exposto, esse trabalho tem como objetivo estudar os aspectos da biologia floral e reprodutiva desta espécie de grande importância econômica, a fim de gerar conhecimentos que possam subsidiar tanto estratégias de conservação de germoplasma, quanto a escolha do melhor método de melhoramento genético para a cultura além de avaliar e compreender a fenologia de florescimento anual em diferentes acessos de mamoeiro dos grupos 'Solos' e 'Formosa', pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de mamão da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, J. D.; BRUTON, B. D.; PATTERSON, C. L. Fungicidal inhibition of pollen germination and germ-tube elongation muskmelon. **HortScience**, Alexandria, v.26, n. 5, p.529-530, 1991.

ARADHYA, M. K.; MANSHARDT, R. M.; ZEE, F.; MORDEN, C. W. A phylogenetic analysis of the genus *Carica* L. (Caricaceae) based on restriction fragment length variation in a cpDNA intergenic spacer region. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 46, p. 579-586, 1999.

ARKLE JR., T. D.; NAKASONE, H. Y. Floral differentiation in the hermaphroditic papaya. **HortScience**, Alexandria, v. 19, p. 832-834, 1984.

BADILLO, V. M. *Caricaceae*. **Revista de la Facultad de Agronomía-Alcance**, Venezuela, v. 43, p. 111, 1993.

BETTENCOURT, E.; HAZEKAMP T.; PERRY, M. C. Papaya. In: **Directory of Germplasm Collections, Tropical and Subtropical Fruits and Tree Nuts**. IBPGR, Rome, v. 6, 1992. BOYDEN, L.E.; COUSINS, P. Evaluation of grape pollen viability after freezing in liquid nitrogen and prolonged storage at -80°C. In: ANNUAL MEETING OF AMERICAN SOCIETY FOR ENOLOGY AND VITICULTURE, 54., 2003, Reno. **Anais...** Reno: ASEV, 2003. v.1, p.65.

BORGES, J. C. & MARTINS, R. P. 1998. Flores abertas à visitação. **Ciência Hoje** 24 (104): 72-75.

CARVALHO, F.A.; FILER, D.; RENNER, S.S. Taxonomy in the electronic age and an e-monograph of the papaya family (Caricaceae) as an example. **Cladistics**, v. 31, p. 321-329, 2015.

CLARKE, J. M.; GILLINGS, M. R.; ALTAVILLA, N.; BEATTIE, A. J. Potencial problems with fluorescein diacetate assays of cell viability when testing natural products for antimicrobial activity. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 46, n. 3, p. 261-267, 2001.

COSTA, A. D. F. S. D.; PACOVA, B. E. V. (2003). Caracterização de cultivares, estratégias e perspectivas do melhoramento genético do mamoeiro. In: MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. de F. S. da. (Eds.). **A cultura do mamão: tecnologia e produção**. Vitória-ES: INCAPER. cap. 3, pp. 59-102, 2003.

COUTO, F. A. D.; NACIF, S. R. Hibridação em mamão. In: BORÉM, A. (Ed.). **Hibridação artificial de plantas**. Viçosa: UFV, pp. 307-329, 1999.

DAFNI, A.; MAUÉS, M. M. A rapid and simple method to determine stigma receptivity. **Sexual Plant Reproduction**, Berlin, v. 2, p. 117-180, 1998.

DAMASCENO JÚNIOR, P. C.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SILVA, F. F.; SOUZA, M. DE M.; NICOLI, R. G. Preferential reproduction mode of hermaphrodite papaya plant (*Carica papaya* L.; Caricaceae). **Revista Brasileira Fruticultura**, São Paulo, v. 31, n.1, p. 182-189, 2009.

DANTAS, J. L. L.; CASTRO NETO, M. T. Aspectos botânicos e fisiológicos. In: TRINDADE, A.V. (Org.). **Mamão, produção: aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, pp.11-14, 2000.

DANTAS, J. L. L.; LIMA, J. F. Seleção e recomendação de variedades de mamoeiro - Avaliação de linhagens e híbridos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 23, p. 617-621, 2001.

DANTAS, J.L.L.; OLIVEIRA, E.J. de. O melhoramento genético do mamoeiro: avanços, desafios e perspectivas. In: SIMPÓSIO NORDESTINO DE GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 1., 2009, Fortaleza. **Anais...** Melhoramento genético no contexto atual: Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical; SBMPRegional Ceará, 2009. p. 151-180.

DANTAS, J. L. L.; LUCENA, R. S.; BOAS, S. A. V. Avaliação agrônômica de linhagens e híbridos de mamoeiro. **Revista Brasileira Fruticultura**, São Paulo, v.37, n.1, p. 138-148, 2015.

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**, Brasília, v. 46, p. 1471-1479, 2011.

DUMAS, C.; KNOX, R. B.; GAUDE, T. Pollen-pistil recognition: new concepts from electron microscopy and cytochemistry. **International Review of Cytology**, San Diego, v. 90, p. 239-272, 1984.

ELIAS, T. S. **The Complete Trees of North America: Field Guide and Natural History**, Van Nostrand Reinhold, New York, p. 948, 1980.

EMBRAPA (2009). **A cultura do mamão**. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/256911/1/PLANTA_RMamuoed032009.pdf>. Acesso em: 2 Junho de 2017.

ERNANI, P. 2002. **Biologia Reprodutiva e Fenologia**. Disponível em: <<http://www.cnpf.embrapa.br>>. Acesso em 1 de novembro 2017.

FAOSTAT (2018a). **FaoStat: agriculture date**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 1 Maio de 2017.

FAOSTAT (2018b). **World List of Seed Sources**. Disponível em: <<http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/AGRICULT/AGP/AGPS/seed/wlss.htm>>. Acesso em: 01 Maio de 2017.

FILHO, G. A.; LEITE, J. B. V.; RAMOS, J. V. (2016). **Sexagem do mamoeiro e sua aplicação.** Disponível em: <<http://www.ceplac.gov.br/radar/Artigos/artigo39.htm>> Acesso em: 24 janeiro, 2018.

FREITAS, B. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **A importância econômica da polinização.** Mensagem Doce, v.80, p. 44-46. 2005.

GALEN, C.; ZIMMER, K. A.; NEWPORT, M. E. A. Pollination in floral scent morphs of *Polemonium viscosum*: a mechanism for disruptive selection on flower size. **Evolution**, United States, v. 41, p. 599-606, 1987.

GALETTA, G. J. Pollen and Seed Management. In: MOORE, J.N.; JANIK, J. (Ed.). **Methods in fruit Breeding. Indiana:** Purdue University Press, pp. 23-47, 1983.

GARRETT, A. The Pollination Biology of Papaw (*Carica papaya* L.) in Central Queensland. **Ph.D. thesis**, Department of Biology, Central Queensland University, Rockhampton, Queensland, Australia, 1995.

GIACOMETTI, D. C.; VAN SLOTEN D. H.; CHOMCHALOW, N. Genetic resources of banana, citrus, mango, papaya and pineapple. **Acta Horticulturae**, Brasília, v. 196, p. 7-24, 1987.

GENTILE, A. G.; Vaughan, A. W.; SUSAN, M. R.; EATON, A. T. Corn pollen germination and tube elongation inhibited or reduced by commercial and experimental formulations of pesticides and adjuvants. **Environmental Entomology**, College Park, v. 2, n.3, p.473-476, 1973.

GILLASPY, G.; BEN-DAVID, H.; GRUISSEM, W. Fruits: a developmental perspective, **The Plant Cell**, Califórnia, v. 5, p.1439-1451, 1993.

HOFMEYR, J.D.J. Some genetic breeding aspects of *Carica papaya* L. **Agronomia Tropical**, v.17, p 345-351, 1967.

HOROVITZ, S. Determinacion del sexo en *Carica papaya* L.. e estructura hipotética de los cromossomos sexuales. **Agronomica Tropical**, Amazonas, v. 3, p. 229-249, 1954.

HOROVITZ, S.; ZERPA, D. M.; ARNAL, H. Frecuencias de equilibrio de las formas sexuales en poblaciones de *Carica papaya* L. **Agronomia Tropical**, Amazonas, v. 3, p. 149-174, 1953.

IBGE. (2018). **Produto das lavouras temporárias e permanentes**. Tabela5457. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457#resultado>> Acesso em: 10 de maio de 2017.

JÚNIOR, J . F . 2002. **Períodos de Floração**. Disponível em: <<http://www.orkideas.com.br>> Acesso em 1 de novembro 2017.

KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologist**. Niwot: University of Colorado, p. 583, 1993, 583p.

KUBITZKI, K. Flowering Plants, Dicotyledons: Malvales, Capparales and Non-betalain Caryophyllales. in: KUBITZKI K.; BAYER, C. (Eds.), **The Families and Genera of Vascular Plants**, v. 5, Springer-Verlag, New York. pp. 57-61, 2003.

LAYNE, R. E. C. Hybridization. In: MOORE, J.; and JANICK, J. (Eds.). **Methods in fruit breeding**. Purdue University Press: ed. Darle Griffith, pp. 48-65, 1983.

LEE, S. L.; NG, K. K. S.; SAW, L. G.; LEE, C. T.; MUHAMMAD, N.; TANI, N.; TSUMURA, Y.; KOSKELA, J. Linking the gaps between conservation research and conservation management of rare dipterocarps: A case study of *Shorea lumutensis*. **Biological Conservation**, Amsterdam, v. 131, n.1, p. 72-92, 2006.

LOUW, A. Papaya pollination. **Neltropika Bulletin**, South Africa, p. 18-19, 2000.

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

MARQUES-SOUZA, A. C. Fontes de pólen exploradas por *Melipona compressipes manaosensis* (Apidae, Meliponinae), abelha da Amazônia Central. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 26,(1/2), p. 77-86, 1996.

MARTÉN, S.; QUESADA, M. Phenology, sexual expression, and reproductive success of the rare Neotropical palm *Geonoma epetiolata*. **Biotropica**, Hoboken, v. 33, n.4, p. 596–605, 2001.

MARTINS, L. A. R.; LAVIOLA, B. G.; PRAÇA-FONTES, M. M. Viabilidade polínica de *Jatropha curcas* L.: uma comparação metodológica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, Guarapari. Desafios e Oportunidades: **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2012.

MING, R.; YU, Q.; MOORE, P. H. **Sex determination in papaya**. Seminars in cell & developmental biology. Academic Press, v.18, n. 3, p. 401-408, 2007.

MUNHOZ, M.; LUZ, C. F. P.; FILHO, P. E. M.; BARTH, O. M.; REINERT. Viabilidade polínica de *Carica papaya* L.: uma comparação metodológica. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 209-214, 2008.

NASCIMENTO W. M; GOMES E. M. L; BATISTA E. A; FREITAS R. A. 2012. Utilização de agentes polinizadores na produção de sementes de cenoura e pimenta doce em cultivo protegido. **Horticultura Brasileira**, 30: 494-498.

NOGUEIRA, P. V.; SILVA, D. F.; PIO, R.; SILVA, P. A. de O.; BISI, R. B.; BALBI, R. V. Germinação de pólen e aplicação de ácido bórico em botões florais de nespereiras. **Bragantia**, Campinas, v. 74, n. 1, p. 9-15, 2015.

OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (2003). **Draft Consensus Document on the Biology of *Carica papaya* (L.) (Papaya)**. Report No. 5 February 2003, OECD, France.

OECD (Organisation for the Economic Cooperation and Development) (2005). **Consensus document on the biology of papaya (*Carica papaya*)**. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology, OECD Environment Directorate, Paris, p. 33.

OLIVEIRA, E. J. de; DANTAS, J. L. L.; CASTELLEN, M. da S (2007a). Conservação e uso do germoplasma de mamoeiro na Embrapa. In: PORTAL DO AGRONEGÓCIO. Agricultura: fruticultura. Pesquisa Agropecuária Brasileira

Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/237274364>> Acesso em 07 de junho de 2017.

OLIVEIRA, E. J. D.; LOYOLA, J. L.; SILVA, M. D.; SOUZA, D.; SOUZA, H. D.; NUNES, T. Marcadores moleculares na predição do sexo em plantas demameiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 12, p. 1747-1754, 2007b.

PERUQUETTI, R.C.; TEIXEIRA, L. V.; COELHO, F. M. **Introdução ao estudo sobre polinização**. Disponível em <http://www.ufac.br/ppgespa/polen> acessado em: 06 de novembro de 2017.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6 ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 478 – 530, 2001.

REYES, S. C. **Mejoramiento genético de la Papaya (*Carica papaya* L.)**. In: Mejoramiento genético de frutales tropicales. Universidad Nacional de Colombia. pp. 85-124, 1981. Disponível em: <[http://www.bdigital.unal.edu.co/55/4/28_3_Capi_3.pdf](http://www.bdigital.unal.edu.co/55/4/28/_3_Capi_3.pdf)>. Acesso em 10 de maio de 2017.

RODRIGUES-RIANO, T.; DAFNI, A. A new procedure to assess pollen viability. **Sexual Plant Reproduction**, Berlin, v. 12, n. 44, p. 241-2444, 2000.

RODRIGUEZ-PASTOR, M. C., GALAN-SAUICO, V., HERRERO-ROMERO, M. Evaluation of papaya autogamy. **Fruits**, Paris, v. 45, p. 387-391, 1990.

SILVA, R. L.; SOUZA, E. H.; VIEIRA, L. J.; PELACANI, C. R. ; SOUZA, F. V. D. Cryopreservation of pollen of wild pineapple accessions. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 219, p. 326-334, 2017.

SHIVANNA, K. R.; RANGASWAMY, N. S. **Pollen biology**. A laboratory manual. Berlin: Springer- Verlag, 1992, 119p.

SOARES, T. L.; SILVA, S. O.; COSTA, M. A. P. C.; SANTOS - SEREJO, J. A.; LINO, L. S. M.; SOUZA, E. H.; JESUS, O. N. In vitro germination and viability of

pollen grains of banana diploids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 8, p. 111-118, 2008.

SOARES, T. L.; SOUZA, E. H.; ROSSI, M. L.; SOUZA, F. V. D. Morphology and viability of pollen grains. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 10, out, 2011.

STANLEY, R.G.; LINSKENS, H. F. **Pollen: biology, Biochemistry management**. New York: Springer-Verlag, p.172, 1974.

TAYLOR, L. P.; HEPLER, P. K. Pollen germination and tube growth. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. v.48, p. 461-91, 1997.

TECHIO, V. H.; DAVIDE, L. C; PEREIRA, A. V. Meiosis in elephant Grass (*Pennisetum purpureum*), pearl millet (*Pennisetum glaucum*) (Poaceae Poales) and their interspecific hybrids. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 353-362, 2006.

VAN DROOGENBROECK, B.; KYDNT, T.; MAERTENS, I.; ROMEIJN-PEETERS, E.; SCHELDEMAN, X.; ROMERO-MOTOCHI, J. P.; VAN DAMME, P.; GOETGHEBEUR, P.; GHEYSEN, G. Phylogenetic analysis of the highland papayas (*Vasconcellea*) and allied genera (Caricaceae) using PCR-RFLP. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 108, p. 1473-1486, 2004.

VIEIRA, A.; RUGGIERO, C.; MARIN, S. L. D. Fitotoxicidade de fungicidas, acaricidas e inseticidas, sobre o mamoeiro (*Carica papaya* L.) Cultivar Sunrise Solo Improved Line 72/12 em condições de campo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 23, n. 2, 315-319, 2001.

ARTIGO 1

MORFOLOGIA E VIABILIDADE DE GRÃO DE PÓLEN DE ACESSOS DE MAMOEIRO (*Carica papaya* L.)¹

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Anais da academia brasileira de ciências, em versão na língua portuguesa.

Morfologia e viabilidade de grãos de pólen em diferentes acessos de mamoeiro (*Carica papaya* L.)

Resumo: O desenvolvimento de novas cultivares de mamoeiro está fortemente relacionado à existência de variabilidade genética que pode ser encontrada em Bancos de Germoplasma. Conhecer os padrões da morfologia e viabilidade polínica dos acessos conservados é fundamental para o uso desses materiais como potenciais parentais no melhoramento genético do mamoeiro. Para o desenvolvimento deste trabalho, foram utilizados 10 acessos de mamoeiro potencialmente promissores, da espécie *Carica papaya* L. De maneira geral, os grãos de pólen apresentaram morfologia mônade, de tamanho médio, isopolar, apresentando simetria radial com âmbito subcircular, formato subprolato esferoidal, tri-colporado com aberturas alongadas e arredondadas simultaneamente, poro alongado posicionado na mesma direção do eixo equatorial, apresentando textura da superfície da exina microrreticulada com presença de pequenos grânulos irregulares. A viabilidade polínica dos acessos foi estudada a partir da germinação *in vitro* e de testes histoquímicos por meio de corantes específicos como alexander 2% e carmim acético 1%. Não houve diferença significativa pelo teste Scott-Knott ($p < 0,01$) para germinação *in vitro* nas diferentes fases de desenvolvimento floral (pré-antese, antese e pós-antese), mesmo assim, os valores de germinação foram mais elevados na antese, com resultados variando de 34,35% a 56,30%. O corante alexande apresentou resultados mais próximos aos obtidos pelo teste de germinação *in vitro*, o que não foi observado com o carmim acético, ainda que as avaliações histoquímicas sejam utilizadas como testes complementares. O meio de cultura BK 10% de sacarose é eficiente na indução da germinação por meio de testes *in vitro* dos grãos de pólen na espécie; e é o teste recomendado para a avaliação da viabilidade polínica nas diferentes fases de desenvolvimento floral em acessos de *Carica papaya* L..

Palavras-chave: microscopia de varredura, acetólise, germinação *in vitro*, câmara de Neubauer, corantes polínicos.

**Morphology and viability of pollen grain in different accesses of mamoeiro
(*Carica papaya* L.)**

Abstract: The development of new papaya cultivars is strongly related to the existence of genetic variability that can be found in Germplasm Banks. Knowing the patterns of the morphology and pollen viability of the conserved accesses is fundamental for the use of these materials as potential parents in the genetic improvement of papaya. For the development of this work, 10 potentially promising papaya accesses of *C. papaya* L. were used. In general, the pollen grains presented medium size, isopolar morphology, presenting radial symmetry with subcircular ambience, spheroidal subprolate, tri-colporate with elongated openings and rounded simultaneously, elongated pore positioned in the same direction of the equatorial axis, presenting texture of the surface of the excreted microreticulate with the presence of small irregular granules. The pollen viability of the accesses was studied from the *in vitro* germination and histochemical tests using specific dyes such as alexander 2% and acetic carmine 1%. There was no significant difference for the Scott-Knott ($p < 0,01$) test for the *in vitro* germination in the different phases of floral development (pre-anthesis, anthesis and post-anthesis). However, germination values were higher in anthesis, with results varying from 34.35% to 56.30%. The alexander dye presented results closer to those obtained by the *in vitro* germination test, which was not observed with the acetic carmine, although the histochemical evaluations were used as complementary tests. The mean of culture BK 10% of sucrose is efficient in inducing germination by *in vitro* testing of the pollen grains in the species; and it is the recommended test for the evaluation of pollen viability in the different phases of floral development in accesses of *C. papaya* L.

Key words: scanning microscopy, acetolysis, *in vitro* germination, Neubauer chamber, pollen dyes.

INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.), apesar de ser considerado uma frutífera de grande importância econômica para o agronegócio nacional e internacional, ainda possui limitado número de cultivares desenvolvidas, principalmente adaptadas às grandes regiões produtoras (DANTAS; LIMA, 2001). Um dos objetivos dos programas de melhoramento genético da cultura inclui o lançamento de novas variedades, por meio de novos cruzamentos, que possam ser mais adaptadas, considerando principalmente as mudanças climáticas que vão gerar novas demandas. No entanto, segundo Dantas e Oliveira (2009), grandes são os desafios, já que as características de interesse não se encontram reunidas em um único genótipo.

A eficiência dos programas de melhoramento genético no desenvolvimento de novas cultivares, que atendam às demandas do agronegócio, está fortemente relacionada à manutenção e caracterização de acessos encontrados nos Bancos Ativos de Germoplasma em diversas instituições de pesquisa (CARVALHO et al., 2003). Estudos sobre a morfologia, ultraestrutura polínica, quantificação e a viabilidade dos grãos de pólen visam, não apenas subsidiar a seleção, caracterização e obtenção de novas variedades potencialmente promissoras, mas também à conservação de alelos, além de ser condição preliminar indispensável para a realização de cruzamentos (CHAGAS, 2010).

Problemas como baixa eficiência de agentes polinizadores, reduzidas taxas de florescimento, causada por fatores climáticos ou genéticos, podem no momento, limitar a realização de novos cruzamentos, dificultando a obtenção de materiais superiormente desejados (TEIXEIRA DA SILVA et al., 2007). A assincronia de florescimento entre acessos também se torna um ponto limitador, devido, principalmente, a indisponibilidade instantânea de grãos pólen viáveis para o estigma receptivo das flores, e vice-versa entre os potenciais parentais.

Além disso, genótipos de mamoeiro podem ao decorrer do tempo, tornar-se vulneráveis a diversos tipos de anomalias florais, podendo ainda, sofrer ataques de patógenos, que por meio do controle químico acabam afetando a capacidade do pólen em germinar, e conseqüentemente, a capacidade de formação de frutos e sementes (VIEIRA et al., 2001).

A conservação de grãos de pólen, a médio e longo prazo, pode ser uma estratégia para a manutenção de alelos importantes para o melhoramento genético. A criopreservação de pólen, por exemplo, tem sido um eficiente método de conservação para outras frutíferas (SILVA, 2017).

No entanto, para uma conservação eficiente e que garanta a posterior funcionalidade do grão de pólen conservado, estudos sobre viabilidade são fundamentais. Esta técnica torna-se eficiente pois estima a capacidade que o grão tem em desenvolver o tubo polínico, responsável pela fecundação (SATISH; RAVIKUMAR, 2010). Além disso, estudos sobre germinação e viabilidade do pólen tornam-se ferramentas na avaliação sobre a capacidade das plantas em gerar frutos e sementes (SOUSA et al., 2013).

Sendo assim, para que a viabilidade polínica seja estimada, vários métodos são desenvolvidos: por meio de corantes específicos (ABDELGADIR et al. 2012) ou testes *in vitro* (SORKHEH et al. 2011) e *in vivo* (FAKHIM et al. 2011). No entanto, testar mais de um tipo de corante se torna fundamental, a fim de encontrar o mais adequado para cada espécie e por que os diferentes testes, na realidade, são complementares (HISTER; TEDESCO, 2016).

Assim como a viabilidade, poucos estudos sobre o sistema reprodutivo e de caracterização morfológica dos grãos de pólen foram realizados em germoplasma da espécie *Carica papaya* L. (PHUANGRAT, 2013). A compreensão sobre o desenvolvimento e morfologia do grão de pólen torna-se crucial para os programas de melhoramento genético, sobretudo, para selecionar acessos que poderão futuramente dar origem à frutos com maior uniformidade e tamanho (ZHAO, 2009), atendendo as exigências do mercado consumidor, além de promover o conhecimento mais aprofundado acerca da taxonomia da espécie.

Neste sentido, visando dar subsídios que auxiliem os programas de melhoramento genético, a conservação e o conhecimento a respeito da taxonomia da espécie, esse trabalho teve como objetivo buscar compreender padrões sistemáticos sobre a morfologia e viabilidade polínica em flores hermafroditas alongadas de diferentes acessos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura-BA.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados grãos de pólen de 10 acessos de mamoeiro da espécie *Carica Papaya* L. (CMF 020; CMF 022; CMF 026, CMF 055; CMF 070, CMF 075; CMF 123; CMF 142; CMF 245, CMF 247) (Tabela 1) pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma BAG mamão da Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizada em Cruz das Almas – BA. Os acessos foram selecionados com base em estudos recentes que visam posterior estabelecimento de uma coleção nuclear, ou seja, um grupo limitado de acessos que representa a máxima diversidade genética conservada de uma espécie (MENEZES, 2014). A coleta foi realizada em janeiro de 2017 e os grãos de pólen retirados de flores hermafroditas de cada acesso, nas fases (pré-antese, antese, pós-antese), sem nenhum tipo de anomalia, considerando o fato que esse tipo de flor produz o fruto comercialmente aceito pelos consumidores brasileiros.

Tabela 1. Tipo de fruto gerado por cada um dos acessos estudados.

Número do acesso	Tipo de fruto
CMF 020	Solo
CMF 022	Formosa
CMF 026	Solo
CMF 055	Formosa
CMF 070	Solo
CMF 075	Formosa
CMF 123	Solo
CMF142	Formosa
CMF 245	Formosa
CMF 247	Formosa

Morfologia polínica

Os grãos de pólen de cada acesso foram fixados em solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965), com glutaraldeído (2%), paraformaldeído (2%), CaCl_2 (0,001 M), e tampão cacodilato de sódio (0,05 M) com pH ajustado para 7,2, durante um período de 48 horas. Em seguida, foram desidratados e imersos à uma bateria etílica (35-100%) de 20 min cada. Posteriormente, os grãos passaram pelo processo de secagem em HMDS (hexametildisilazano),

sobrepostos em suportes metálicos específicos e recobertos com ouro. As fotos das amostras foram obtidas por meio de um microscópio eletrônico de varredura LEO 435 VP, de pressão variável (Carl Zeiss, Jena, Alemanha).

As características qualitativas sobre a morfologia dos grãos de pólen foram descritas utilizando glossários de palinologia, assim como manuais específicos com fotografias, além da comparação com trabalhos científicos anteriores.

Quantificação e tamanho de grãos de pólen

Para quantificação dos grãos de pólen, foi realizada a contagem do número de grãos produzidos por flor, considerando que cada flor normal de mamoeiro possui dez anteras. Os testes foram realizados com três repetições por acesso, ou seja, três flores na pré-antese por acesso. A metodologia utilizada foi a mesma descrita por Kearns e Inouye (1993), que consiste em imergir e macerar as anteras de cada botão floral em tubos de eppendorf 2 mL, contendo ácido láctico. Posteriormente, os tubos foram agitados com auxílio de um vortex, no intuito de manter os grãos de pólen em suspensão, e com ajuda de uma micropipeta o material foi depositado devidamente na canaleta da câmara de Neubauer e observado em microscópio ótico (aumento 100x). A contagem dos grãos de pólen foi realizada nos quatro campos da câmara de Neubauer (A, B, C e D). Para se obter o número estimado de grãos de pólen/ mL, foi utilizada a seguinte regra de três, onde:

$$\begin{array}{l} \text{N}^\circ \text{ médio de grãos de pólen do campo A} \text{ --- } 0,0001 \text{ cm}^3 \\ \text{X grãos de pólen} \text{ --- } 1 \text{ cm}^3 \text{ (1 mL)} \end{array}$$

Sendo portanto, o número estimado de grãos de pólen por flor a média dos quatros campos da câmara de Neubauer elevado a 10^4 .

A caracterização do tamanho do grão de pólen, foi realizada por meio da relação entre as medidas de diâmetro polar e equatorial em 25 grãos de cada acesso. Estas medidas foram feitas utilizando o software ImageJ após os grãos de pólen serem dispostos em lâminas e submergidos à uma gota da solução de acetólise láctica fraca (ACLAC 40), composta por 10 mL de ácido sulfúrico, 50 mL

de anidrido acético e 40 mL de ácido láctico e observação em microscópio ótico, conforme Raynal e Raynal (1979).

Os dados quantitativos foram submetidos à análise estatística utilizando o Software R e as médias comparadas por meio do teste de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$).

Germinação *in vitro* de grãos de pólen

Esses experimentos foram realizadas no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Como ensaio preliminar foram avaliadas diferentes concentrações de sacarose para o meio de cultura Brewbaker e Kwack (BREWBAKER, 1963) composto por: H₃BO₃ (0,01%); Ca(NO₃)₂ * 4H₂O (0,03%); MgSO₄ * 7H₂O (0,02%); KNO₃ (0,01%); ágar (0,5%)] ajustado a um pH 6,5.

As anteras foram retiradas e os grãos de pólen foram distribuídos uniformemente, com auxílio de um pincel, sobre a superfície das placas de petri contendo o meio de cultura nas diferentes concentrações de sacarose: (BK 5%, BK 10%, BK 15% e BK 20%).

Para o teste de viabilidade, por meio da germinação *in vitro*, flores hermafroditas de mamoeiro foram coletadas em diferentes fases de desenvolvimento: pré-antese, antese e pós-antese com três repetições por fase /acesso. O procedimento foi o mesmo descrito acima e o meio foi o BK 10%.

As placas foram mantidas em incubadora à temperatura de 27 ±1 °C por um período de 24 horas. Passado o período de incubação, microfotografias foram realizadas por meio do estereomicroscópio Leica EZ4 D. A germinação foi estimada (em porcentagem) a partir da contagem dos grãos de pólen germinados sobre o total em cada quadrante da placa de petri, sendo a média destes valores o resultado de uma repetição. Foram considerados grãos de pólen germinados aqueles que apresentaram tamanho do tubo polínico visualmente igual ou superior ao diâmetro do próprio grão de pólen.

Os dados de porcentagem de germinação foram transformados para arc sen ($\sqrt{x100}$) e submetidos à análise estatística utilizando o Software R, com as médias comparadas por meio do teste Scott-Knott ($p > 0,01$).

Testes histoquímicos

A viabilidade polínica foi testada por dois tipos de corantes específicos: alexander 2% de ácido láctico (ALEXANDER, 1980) e o carmim acético (1%) (KEARNS; INOUIE, 1993). Três flores por acesso /fase (pré-antese, antese e pós-antese) foram coletadas e, imediatamente, em laboratório, retiradas suas anteras e postas sobre lâminas de vidro, adicionando uma gota do respectivo corante. As avaliações foram realizadas por meio de microfotografias com microscópio óptico e para cada repetição, foram retiradas 4 fotos sendo os grãos de pólen contados em toda a dimensão da imagem. Posteriormente foi realizado o cálculo para estimar a viabilidade em porcentagem entre os grãos viáveis e o total de grãos.

Os dados foram submetidos à análise estatística utilizando o Software R, e as médias comparadas por meio do teste Scott-Knott ($p > 0,01$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfologia polínica

Os grãos de pólen dos 10 acessos de *Carica papaya* L. apresentam morfologia mônade, de tamanho médio, isopolar, apresentando simetria radial com âmbito subcircular, formato subprolato esferoidal (diâmetro polar/diâmetro equatorial entre 0,80-1,17 μm) (Tabela 2), tricolporado - três aberturas alongadas e arredondadas simultaneamente - com poro central alongado posicionado na mesma direção do eixo equatorial.

A textura da superfície da exina apresentou microperfurações variando de forma reticulada à microrreticulada além de apresentar pequenos grânulos irregulares aderidos à sua superfície, provenientes das membranas do lúmen do retículo. Ainda é possível observar que a área externa ao redor dos colpos é pistilada como foi demonstrado por Zini, et al., (2017), com malha interna também granulada (Figura 1 e 2).

Trabalhos anteriores sobre morfologia do grão de pólen de *C. papaya* L. reforçam que a ornamentação da exina é reticulada apresentando espessura fina (FISHER, 1980; PHUANGRAT, 2013). Ainda segundo Fisher (1980) o poro central

formado devido à abertura colporada dos grãos de pólen de *C. papaya* L. é de formato alongado, ou seja, posicionado transversalmente à abertura equatorial, sendo encontrado também em trabalhos recentes de autores como Zini et al., (2017). No entanto, o poro central em todos os 10 acessos avaliados nesta pesquisa estão dispostos de maneira alongados, ou seja, posicionados na mesma direção do eixo equatorial (Figura 1 e 2).

Assim, a variabilidade de grãos de pólen entre diferentes acessos de *C. papaya* avaliados nesta pesquisa diz respeito basicamente ao tamanho do grão observado.

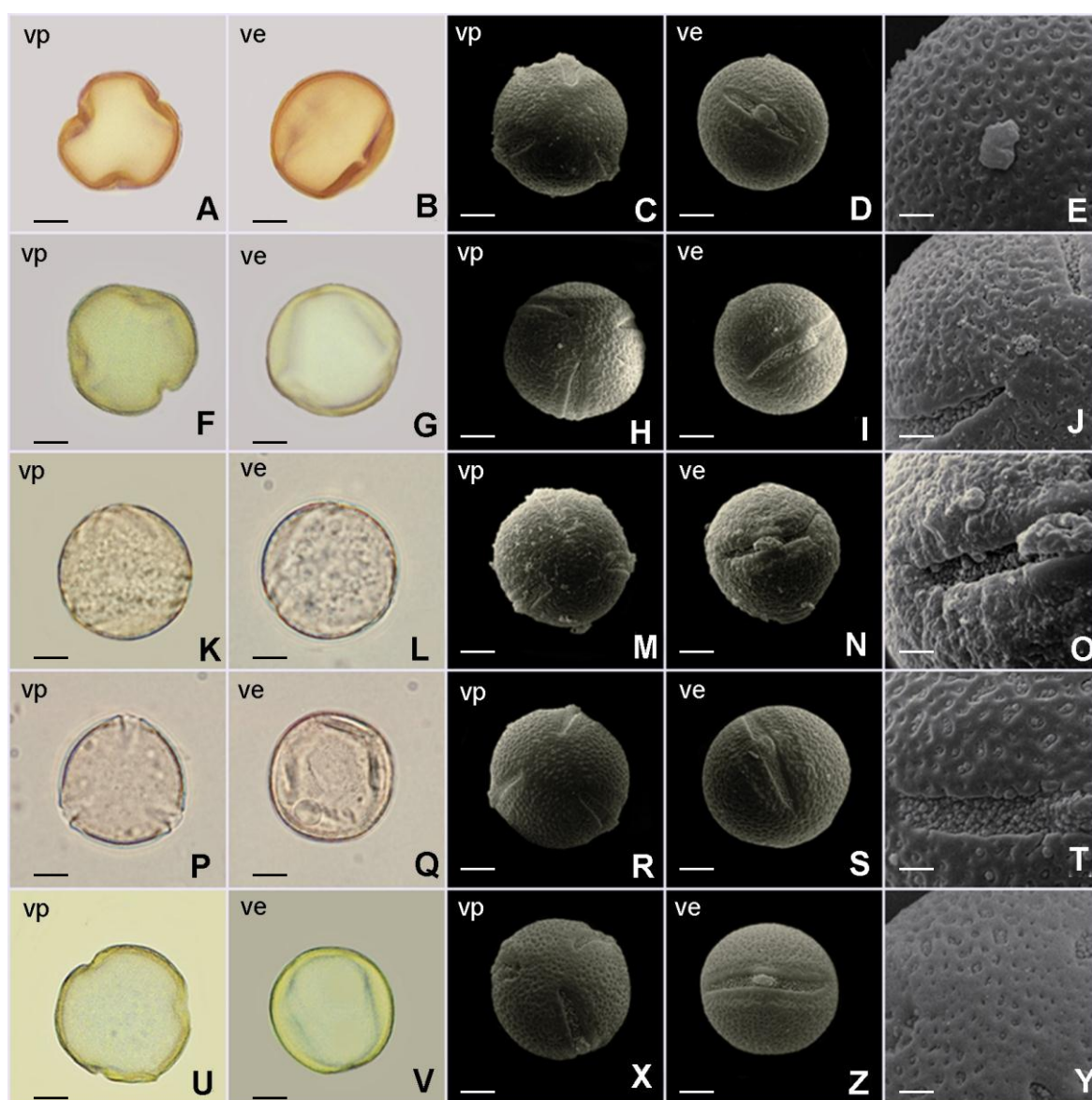


Figura 1. Morfologia e características da exina de diferentes acessos de mamoeiro da espécie *Carica papaya* L. A-E) acesso CMF 020; F-J) acesso CMF 022; K-O) acesso CMF 055; P-T) acesso CMF 070; U-Y) acesso CMF 075; (A, B, F, G, K, L, P, Q, U, V) grãos de pólen após acetólise; (A, F, K, P, U) vista polar (vp); e (B, G, L, Q, V) vista equatorial (ve); (E, J, O, T, Y) ornamentação da exina. Imagens obtidas em acetólise e microscopia eletrônica de varredura. Barras: A, B, F, G, K, L, P, Q, U, V = 50 μ m; C, D, H, I, M, N, R, S, X, Z = 10 μ m; E, J, O, T, Y = 2 μ m.

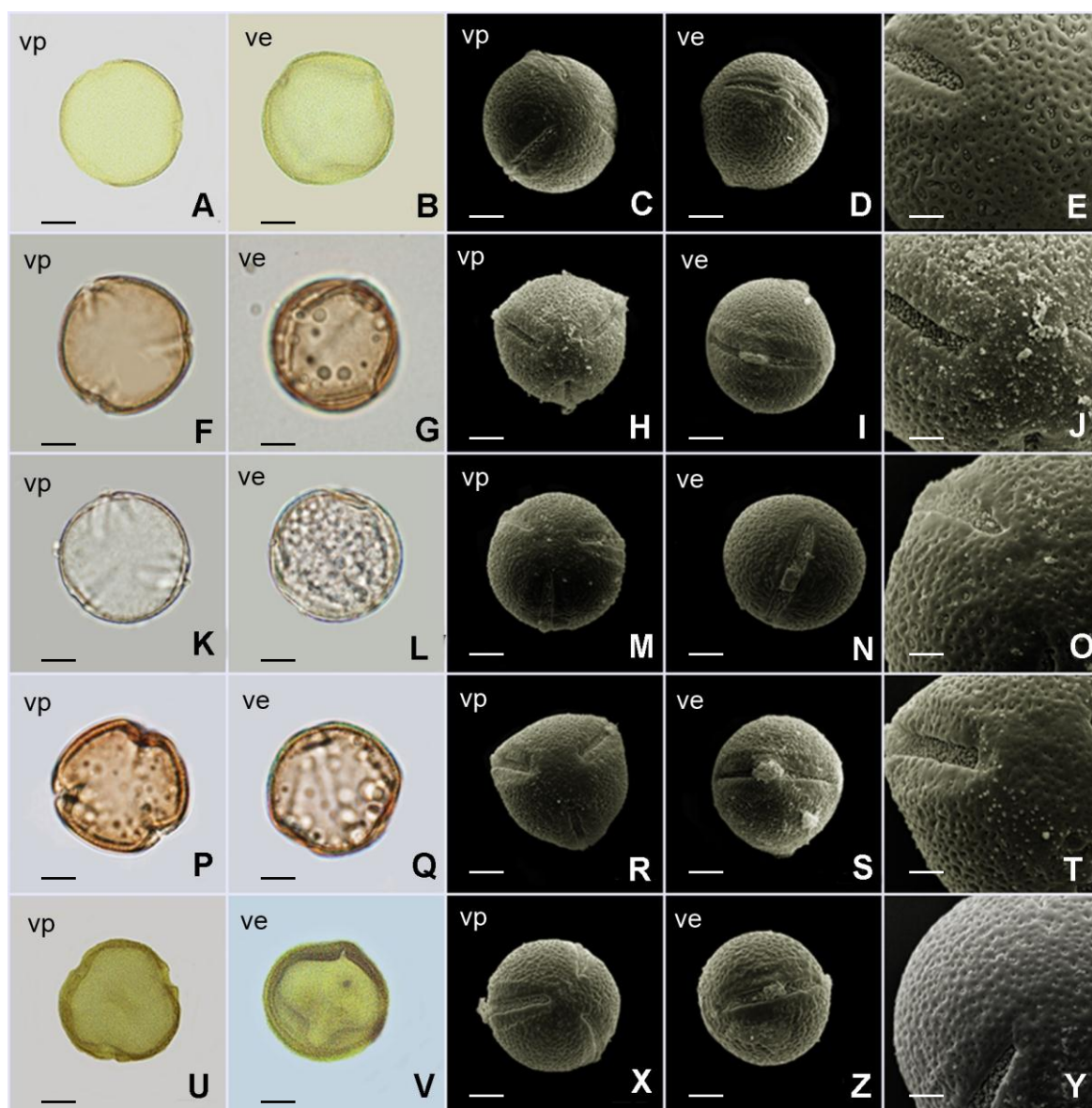


Figura 2. Morfologia e características da exina de diferentes acessos de mamoeiro da espécie *Carica papaya* L. A-E) acesso CMF 075; F-J) acesso CMF 123; K-O) acesso CMF 142; P-T) acesso CMF 245; U-Y) acesso CMF 247; (A, B, F, G, K, L, P, Q, U, V) grãos de pólen após acetólise; (A, F, K, P, U) vista polar (vp); e (B, G, L, Q, V) vista equatorial (ve); (E, J, O, T, Y) ornamentação da exina. Imagens obtidas em acetólise e microscopia eletrônica de varredura. Barras: A, B, F, G, K, L, P, Q, U, V = 50 μm ; C, D, H, I, M, N, R, S, X, Z = 10 μm ; E, J, O, T, Y = 2 μm .

Quantidade de grãos de pólen por antera

Tabela 2. Tamanho e número de grãos de pólen de diferentes acessos de mamoeiro da espécie *Carica papaya* L. Teste de Shapiro-Wilk a 5% de significância.

Nº do acesso	Vista equatorial				Tamanho	Nº grão de pólen/antera
	Diâmetro polar		Diâmetro equatorial			
	Menor	Maior	Menor	Maior		
CMF 020	115.333	209.414	117.472	213.667	Médio	51.500 a
CMF 022	111.220	183.378	116.667	206.998	Médio	78.833 a
CMF 026	134.934	208.603	90.000	217.478	Médio	57.500 a
CMF 055	107.667	198.841	94.443	220.999	Médio	36.666 a
CMF 070	87.340	232.210	138.667	187.633	Médio	50.333 a
CMF 075	142.333	211.002	167.000	205.758	Médio	47.833 a
CMF 123	62.442	188.000	45.845	187.619	Médio	60.166 a
CMF 142	92.541	209.687	104.124	216.236	Médio	47,666 a
CMF 245	37.197	215.000	50.291	216.275	Médio	64.500 a
CMF 247	70.000	145.667	77.643	170.736	Médio	47.166 a

Não houve diferença significativa entre as médias dos acessos quando se compara a variável 'número de grão de pólen por antera' (Tabela 2). Mesmo assim, considerando o fato que cada flor hermafrodita normal de *Carica papaya* L. possui 10 anteras, o acesso CMF 022 apresentou maior destaque na produção de grão de pólen com cerca de 780.000 grãos de pólen/flor, contra 366.600 pólen/flor produzido pelo acesso CMF 055, por exemplo.

Essas variações podem estar relacionadas tanto aos fatores ambientais a que a planta está submetida quanto a fatores genéticos. O manejo, o local e as

condições ambientais, por exemplo, podem interferir no desenvolvimento vegetal de forma diferenciada em cada indivíduo (ALBUQUERQUE JUNIOR et al., 2010; KHANDURI, 2011).

Garrett (1995) observou que a quantidade e viabilidade de grãos de pólen em *C. papaya* L. pode variar a depender da cultivar e também da época do ano, havendo uma redução desses parâmetros, principalmente no inverno e início de primavera, quando ocorre aumento da umidade relativa do ar e conseqüentemente, presença de umidade nas anteras.

Phuangrat et al., (2013) em estudos com a cultivar comercial tailandêsa 'Khak Nual' observou que o número de grãos de pólen /antera foi cerca de $14.884 \pm 2,283$, valor abaixo da produção referente aos 10 acessos avaliados nesta pesquisa. Em estudos com as cultivares de mamoeiro 'Golden' e 'Tainung 01' o número de grão de pólen por antera foi ainda menor, em torno de 10.805 e 12.195 grãos de pólen, respectivamente (DAMASCENO, 2009).

Araújo et al., (2009) revelam que acessos que possuem maior quantidade grãos de pólen nas flores necessitam de menor número de botões florais para serem utilizados em cruzamentos e futuras hibridações. Em trabalhos de melhoramento genético, por exemplo, a quantidade de grãos de pólen em algumas espécies pode ser apenas um indicativo, já que muitas vezes o material é inviável, servindo apenas como atrativo alimentar para polinizadores.

Viabilidade polínica

Germinação de grãos de pólen *in vitro*

A análise de regressão polinomial mostrou que a concentração de sacarose em torno de 10% forneceu as maiores taxas de germinação (%) de grãos de pólen de mamoeiro (*C. papaya* L.) na fase de antese, quando comparado às demais concentrações (Figuras 3 e 4). Posteriormente, a equação de segundo grau para concentração BK 10% possibilitou aferir que a dosagem ótima de sacarose está em torno de 7%. No entanto, a partir das concentrações pré-estabelecidas nos testes preliminares, a concentração BK 10% foi

selecionada por apresentar maiores taxas de percentual germinativo quando comparada com as demais concentrações.

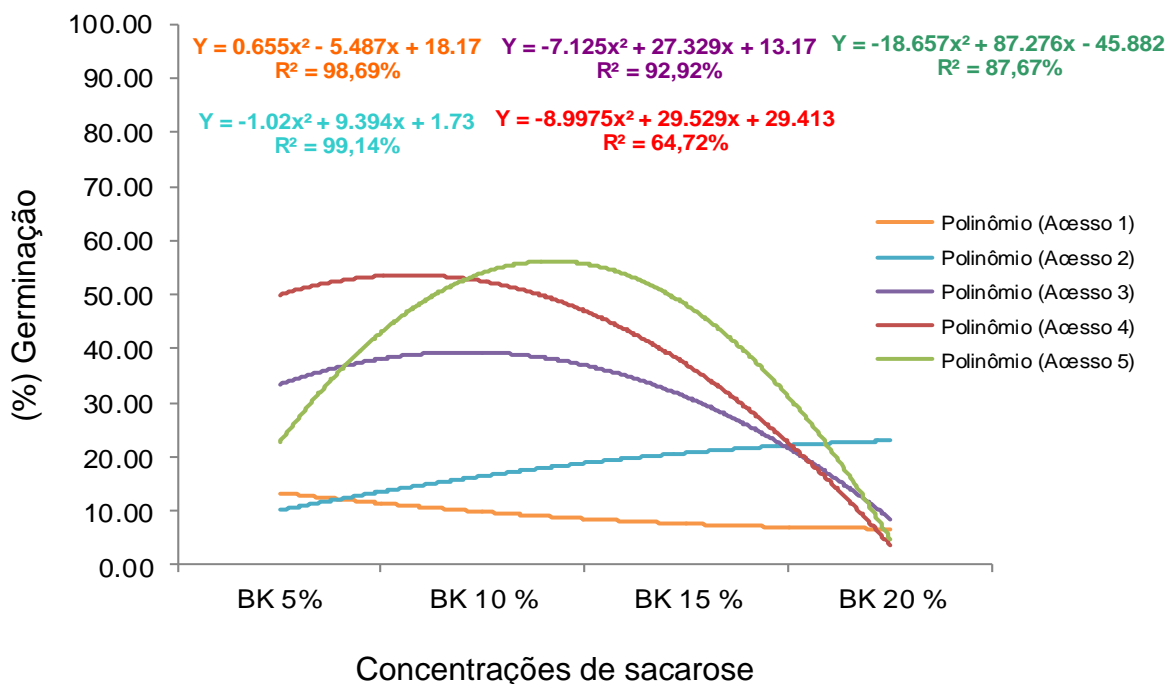


Figura 3. Regressão com linha de tendência polinomial para germinação (%) de grãos de pólen de mamoeiro na fase de antese em diferentes concentrações de sacarose para o meio de cultura BK.

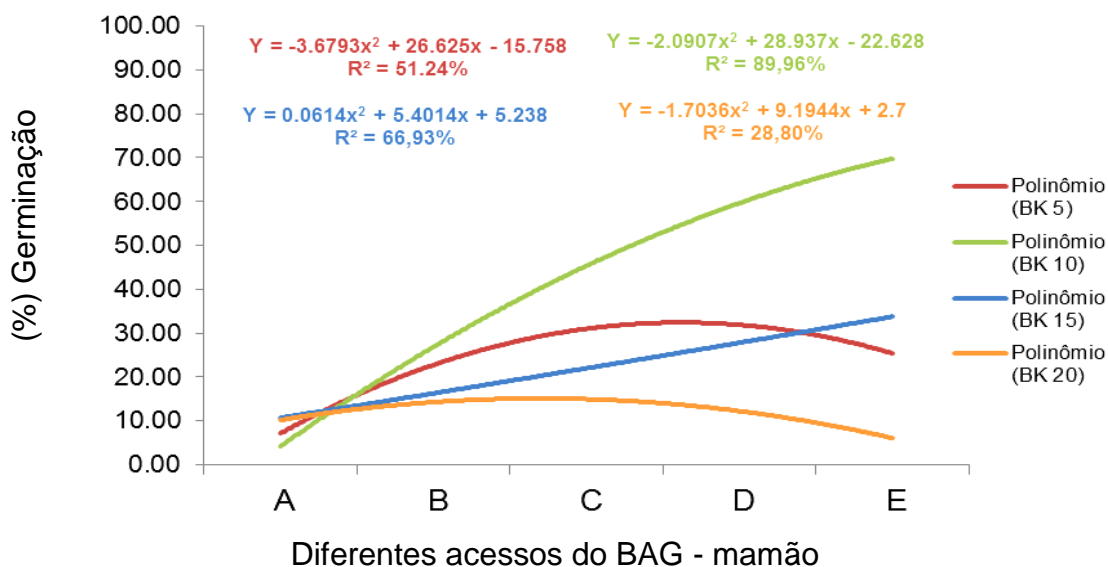


Figura 4. Regressão com linha de tendência polinomial para germinação (%) de grãos de pólen de mamoeiro na fase antese em diferentes acessos de *Carica papaya* L. para o meio de cultura BK.

Tabela 3. Porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen obtidos por testes preliminares em diferentes concentrações de sacarose, para o meio de cultura Brewbaker e Kwack.

Acessos	BK 5%	BK 10%	BK 15%	BK 20%
A	13,47	9,42	8,00	6,57
B	9,90	17,05	20,12	23,19
C	31,93	43,66	26,70	9,93
D	43,51	71,78	17,72	10,00
E	19,41	64,02	38,05	8,03

Dos 5 acessos avaliados nos testes preliminares, três obtiveram germinação máxima em torno de 43,66%, 64,02% e 71,78% utilizando o meio de cultura BK 10% de sacarose (Tabela 3).

Munhoz et al., (2008) trabalhando com os meios de cultura Traub & O'Rork (1936) e Cohen et al., (1989) a 5% de sacarose, obtiveram taxas semelhantes de germinação de grãos de pólen de *Carica papaya* L. com valores em torno de 65% e 51,5%, respectivamente. Os testes preliminares são fundamentais para estabelecimento de um protocolo específico, principalmente porque, alguns fatores como a composição do meio de cultura, estado nutricional das plantas, temperatura, período de incubação e pH podem afetar a germinação do pólen em cada espécie estudada (SOARES et al., 2008; SOUZA et al., 2014, ZAMBON et al., 2014).

A análise de variância e o teste de comparação de médias das taxas de germinação nos 10 acessos avaliados (Tabela 4), não demonstrou diferença significativa nem entre acessos nem entre fases, com exceção do CMF 022. Mesmo assim, existe um comportamento quase padrão entre os acessos CMF 026, CMF 055, CMF 070, CMF 075, CMF 123 e CMF 142, quando se é considerado o número absoluto da porcentagem. É possível afirmar, neste caso, que em 60% dos acessos avaliados a germinação apresenta um leve aumento na antese, com os valores variando de 34,35% a 56,30% para entrar em queda na pós-antese. Já os acessos CMF 020 e CMF 022 apresentaram um comportamento diferenciado, com aumento da germinação a medida que vai da pré-antese até a pós-antese, com destaque para o maior valor de germinação registrado na pós-antese que foi do CMF 022.

Phuangrat et al., (2013) em estudos com flores hermafroditas alongadas de *Carica papaya* L. obteve resultados semelhantes apresentando germinação em torno de 46,33% na antese. Este fato pode estar relacionado ao máximo desenvolvimento e expansão celular, que neste momento permitem que as flores se tornem maduras e mais favoráveis à fertilização, tornando sua viabilidade elevada.

Tabela 4. Médias de germinação (%) de grãos de pólen de diferentes acessos de mamoeiro da espécie *Carica papaya* L em diferentes fases de desenvolvimento. Os resultados correspondem às médias das notas obtidas entre as repetições.

Germinação <i>In vitro</i>			
Acesso	Pré-antese	Antese	Pós-antese
CMF 020	37,12 Aa	43,89 aA	54,14 aA
CMF 022	32,08 bB	39,85 aB	67,19 aA
CMF 026	30,05 bA	42,06 aA	30,06 bA
CMF 055	25,36 bA	41,40 aA	31,62 bA
CMF 070	44,91 aA	56,30 aA	35,95 bA
CMF 075	41,95 aA	47,70 aA	38,45 bA
CMF 123	19,37 bA	34,35 aA	32,50 bA
CMF 142	41,05 aA	48,73 aA	42,36 bA
CMF 245	46,41 aA	45,79 aA	32,92 bA
CMF 247	37,26 aA	40,72 aA	45,97 bA

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,01$).

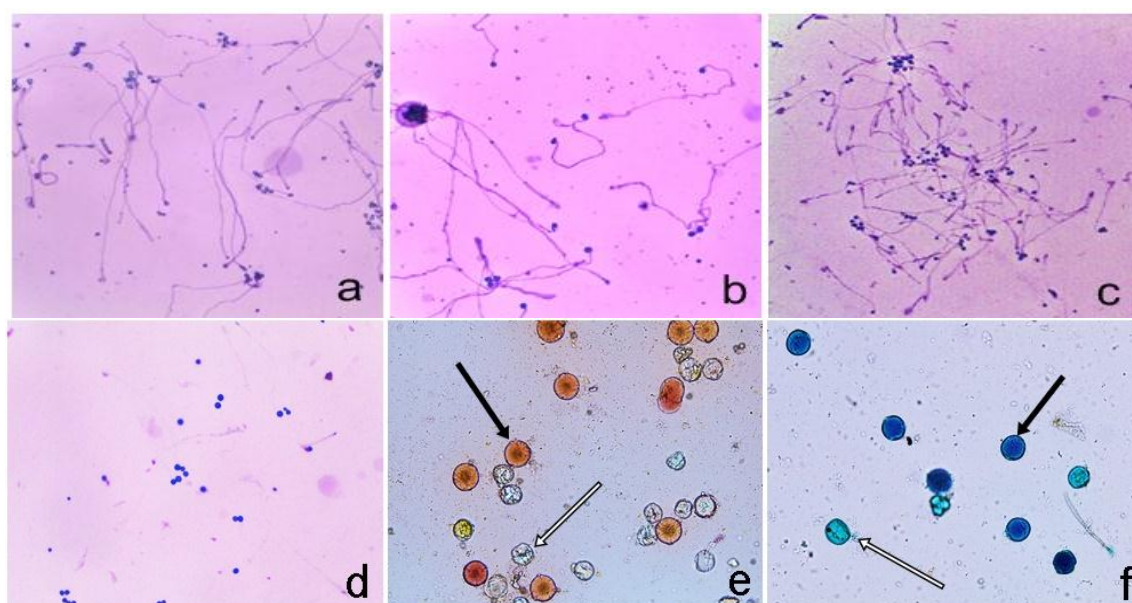


Figura 5. Taxas de germinação *in vitro* (%) em diferentes acessos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) em (a) fase de pré-antese CFM 245, (b) fase antese CMF 070, (c) fase pós-antese CMF 022; (d) representação da baixa germinação de grão de pólen CMF 022; (setas pretas) grãos de pólen viáveis e (setas brancas) grãos inviáveis por meio do corante carmim acético (e) e alexander (f).

Foi possível constatar ainda, que a máxima germinação de grãos de pólen na pré-antese ocorreu no acesso CFM 245, na antese em CMF 070, seguido do acesso CMF 022 na pós-antese (Figura 5). Além disso, apesar de não haver diferença significativa entre fases, em geral, a pré-antese demonstrou as menores taxas de germinação, com resultados variando de 19,37% a 46,41% (Tabela 4).

Embora em alguns acessos a germinação na pós-antese mostre melhores resultados, cuidados devem ser tomados principalmente quando o objetivo é voltado para a utilização em hibridações por meio de programas de melhoramento genético. Isso se deve, principalmente, porque, o grão de pólen deve ser puro, sem contaminação de outras fontes de pólen (FRANZON, 2006). Uma das alternativas para a preservação da integridade do grão de pólen no campo, é por meio de uma técnica específica que consiste em proteger as flores ainda no estágio de botão floral, a partir da utilização de sacos de papel encerado resistentes à chuva, ao vento e à agentes polinizadores naturais.

Suketi et al., (2011) em estudos sobre germinação de grãos de pólen de acessos de *Carica papaya* L. pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma do Research Center for Tropical Fruit IPB na Indonésia, relata que não há correlação significativa entre tamanho dos frutos e viabilidade do pólen, ou seja, um fruto de mamoeiro não apresentará tamanho maior devido a elevada taxa de grãos de pólen germinados, nem tampouco pelo maior comprimento do tubo polínico. O autor afirma também que cada genótipo apresenta características únicas sobre sua própria viabilidade.

Testes histoquímicos

Os testes histoquímicos por meio de corantes específicos, contribuíram no acréscimo de informações sobre a viabilidade polínica e a integridade dos

acessos de *Carica papaya* L.. De maneira geral, a viabilidade (%) utilizando a solução de alexander e carmim acético apresentaram taxas superestimadas de viabilidade quando comparado aos testes de germinação *in vitro*, o que pode estar associado ao fato de que eles não levam em consideração a capacidade de formação do tubo polínico, sendo apenas um indicativo interessante para complementar, de maneira rápida, informações sobre a integridade polínica das flores (SOARES et al., 2008).

A solução de alexander se diferenciou significativamente apresentando valores superestimados de viabilidade na fase de desenvolvimento pré-antese de acordo com o teste Scott-Knott ($p < 0,01$), principalmente para os acessos CMF 020, CMF 026, CMF 070, CMF 142 e CMF 245, que apresentaram resultados em torno de 75,37%, 70,32%, 81,69%, 92,26% e 81,54%, respectivamente (Tabela 5), ou seja, grãos de pólen com protoplasma e parede celular íntegras, indicados pela coloração escurecida do protoplasma e um fino contorno verde da parede celular. Os grãos de pólen inviáveis, no entanto, apresentaram somente coloração esverdeada, devido a ausência do protoplasma (Figura 5). Munhoz et al., (2008) estudando a viabilidade por meio da solução de alexander em plantas de mamoeiro (*Carica papaya* L.) 'Sunrise solo' na fase de pré-antese, obteve resultados semelhantes com cerca de 92,6%.

Seguida da fase de pré-antese, a antese foi a fase de desenvolvimento que apresentou taxas de viabilidade menos contrastantes comparado aos testes de germinação *in vitro*, exceto para CMF 022 e CMF 123 que apresentaram resultados mais elevados na pós-antese. As análises estatísticas pelo teste de Scott-Knott a 1% de probabilidade demonstram ainda, que a variação utilizando este tipo de corante ocorreu, não somente entre fases, mas também entre acessos. O CMF 123 e CMF 247, por exemplo, foram os acessos que apresentaram menores taxas de viabilidade em relação aos demais acessos (Tabela 5).

Tabela 5. Médias dos valores de viabilidade polínica (%) em acessos de mamoeiro da espécie *Carica papaya* L. utilizando os corantes específicos alexander e carmim acético para cada fase de desenvolvimento floral.

Viabilidade com solução – Alexander %			
Acesso	Pré-antese	Antese	Pós-antese
CMF 020	75,37 aA	41,32 dB	52,50 bB
CMF 022	67,45 bA	65,64 bA	71,77 aA
CMF 026	70,32 bA	50,85 cB	29,95 cC
CMF 055	88,80 aA	86,57 aA	51,02 bB
CMF 070	81,69 aA	68,13 bAB	60,09 aB
CMF 075	80,99 aA	57,71 cB	40,32 cB
CMF 123	51,02 cA	18,60 eB	36,82 cA
CMF 142	92,26 aA	69,64 bB	48,00 bC
CMF 245	81,54 aA	52,01 cB	42,17 cB
CMF 247	49,60 cA	55,05 cA	54,03 bA

Viabilidade com a solução - Carmim acético %			
Acesso	Pré-antese	Antese	Pós-antese
CMF 020	73,41 bA	77,88 aA	60,74 cA
CMF 022	85,70 aA	85,80 aA	81,89 bA
CMF 026	89,84 aA	93,08 aA	83,08 bA
CMF 055	66,86 bA	78,97 aA	66,47 cA
CMF 070	84,05 aA	64,33 bB	51,47 cB
CMF 075	82,33 aAB	87,58 aA	67,62 cB
CMF 123	71,19 bAB	86,82 aA	54,18 cB
CMF 142	89,34 aA	89,43 aA	80,51 bA
CMF 245	77,14 bA	50,21 bB	55,61 cB
CMF 247	87,82 aA	94,98 aA	93,92 aA

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 1% de probabilidade.

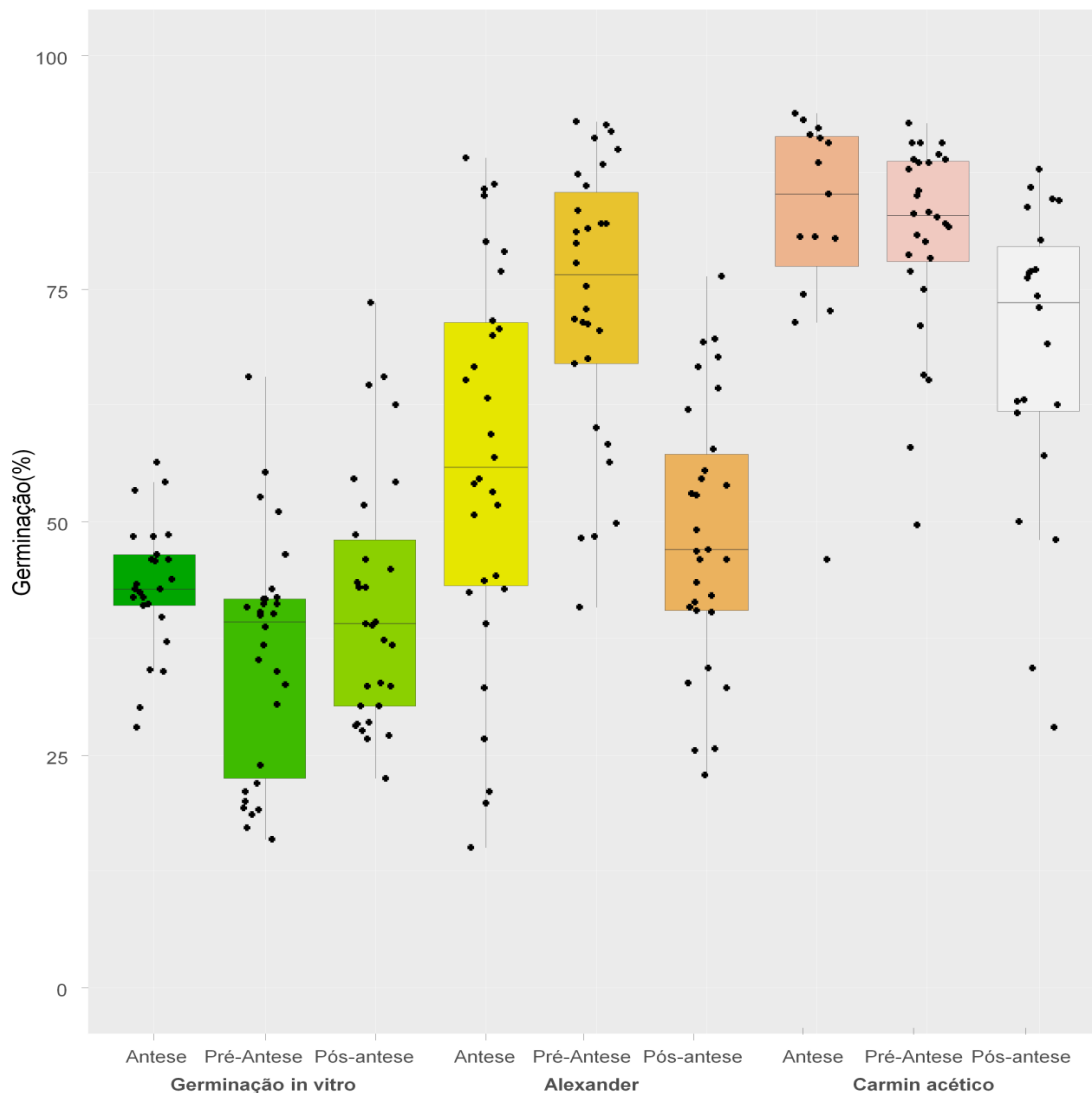


Figura 6. Gráfico boxplot indicando a distribuição dos valores de viabilidade (%) em diferentes métodos e fases de desenvolvimento floral de *Carica papaya L.*

O gráfico boxplot (Figura 6) fornece informações complementares a cerca da distribuição dos valores de viabilidade (%) entre os métodos utilizados e fases de desenvolvimento floral da espécie. A mediana é a principal ferramenta de avaliação, subdividindo a concentração total de germinação em 50% na parte superior da mediana e 50% abaixo da mediana.

A viabilidade medida por meio da solução carmin acético apresentou resultados superestimados quando comparados à solução de alexander principalmente na antese e pós-antese e aos testes de germinação *in vitro*. A antese, utilizando carmin acético, foi a fase que apresentou maior índice de

viabilidade, principalmente para os acessos CMF 020, CMF 022, CMF 026, CMF 055, CMF 075, CMF 123, CMF 142 e CMF 247 com resultados variando de 77,88 a 94,98 % (Figura 6). Estudos realizados por Munhoz (2008) relatam resultados semelhantes quanto à integridade da cromatina, com viabilidade nesta fase em torno de 98,2% apresentando grãos de pólen corados de vermelho intenso (Figura 5).

Seguida da fase antese, a pré-antese foi a fase de desenvolvimento que apresentou maiores taxas de viabilidade utilizando o corante carmim acético, com valores em torno de 66,86 a 89,84% e pós-antese com médias entre 51,47 e 93,08 % (Tabela 5). Assim, com resultados mais próximos aos resultados obtidos por meio de teste de germinação *in vitro*, o corante alexander se tornou mais eficiente e fiel no que diz respeito a estimativa da viabilidade polínica quando comparado ao corante carmim acético.

E embora sejam técnicas muito atrativas pela simplicidade e rapidez, os testes histoquímicos superestimam fortemente a viabilidade polínica quando comparados aos resultados obtidos por meio da germinação *in vitro* (STANLEY & LINSKENS 1974, RODRIGUEZ-RIANO & DAFNI 2000). Sendo importante, portanto, a utilização de pelo menos dois corantes diferentes, a fim de garantir uma maior certeza nos resultados.

CONCLUSÃO

1. Os acessos avaliados apresentam características semelhantes entre si quanto à morfologia do grão de pólen, porém cada um apresenta sua própria particularidade e aspectos característicos únicos;
2. O conhecimento sobre a viabilidade polínica entre os acessos estudados, poderá ser utilizada como estimativa para maiores chances de fecundação;
3. O meio de cultura BK 10% de sacarose é eficiente na indução da germinação *in vitro* dos grãos de pólen na espécie;

4. Não houve diferença significativa para a germinação *in vitro* (%) nas diferentes fases de desenvolvimento. No entanto, a antese apresentou resultados de viabilidade mais elevados, seguido da pré-antese e pós-antese, respectivamente;

5. Com resultados menos contrastantes aos resultados obtidos por meio de teste de germinação *in vitro*, o corante alexander se tornou mais eficiente e fiel no que diz respeito a estimativa da viabilidade polínica quando comparado ao corante carmim acético.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELGADIR, H. A.; JOHNSON, S. D. & VAN STADEN, J. Pollen viability, pollen germination and pollen tube growth in the biofuel seed crop *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae). **South African Journal of Botany**, África, v. 79, p. 132-139, 2012.

ALBUQUERQUE JUNIOR, C. L. et al. Número de anteras por flor, grãos de pólen por antera e capacidade germinativa do pólen de diferentes cultivares de macieiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1255-1260, 2010.

ALEXANDER, M. P. Aversatile stain for pollen fungi, yeast and bacteria. **Stain Technology**, Baltimore, v.55. n.1, p. 13-18, 1980.

ARAÚJO, J. L. O. et al. Síndromes de polinização ocorrentes em uma área de Mata Atlântica, Paraíba, Brasil. **Biotemas**, v. 22, n. 4, p. 83-94. 2009.

BREWBAKER, J. L.; KWACK, B. H. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. **American Journal of Botany**, Lancaster, v. 50, p. 859-865, 1963.

CARVALHO, J. M. F. C.; VIDAL, M. S. Crioconservação no Melhoramento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira Algodão**, Curitiba, v. 1. p. 11-12, 2003.

CHAGAS, E. A.; PIO, R.; CHAGAS, P. C.; PASQUAL, M.; NETO, J. E. B. Composição do meio de cultura e condições ambientais para germinação de grãos de pólen de porta-enxertos de pereira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 2, p. 231- 266, 2010.

COHEN, E., LAVI, U. & SPIEGEL-ROY, P. 1989. Papaya pollen viability and storage. **Scientia Horticulturae**, Netherlands, v. 40, p. 317-324.

DAMASCENO JÚNIOR, P. C.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SILVA, F. F.; SOUZA, M. DE M.; NICOLI, R. G. Preferential reproduction mode of hermaphrodite papaya plant (*Carica papaya* L; Caricaceae). **Revista Brasileira Fruticultura**, São Paulo, v. 31, n.1, p. 182-189, 2009.

DANTAS, J. L. L.; LIMA, J. F. Seleção e recomendação de variedades de mamoeiro - Avaliação de linhagens e híbridos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 23, p. 617-621, 2001.

DANTAS, J.L.L.; OLIVEIRA, E.J. de. O melhoramento genético do mamoeiro: avanços, desafios e perspectivas. In: SIMPÓSIO NORDESTINO DE GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 1., 2009, Fortaleza. **Anais...** Melhoramento genético no contexto atual: Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical; SBMPRegional Ceará, 2009. p. 151-180.

FAKHIM, R. S. H.; HAJILOU, J.; ZAARE, N. F. Pollen germination and pistil performance in several Iranian peach cultivars. **International Journal AgriScience**, Alemanha, v. 1, p. 71-77, 2011.

FISHER, J. B. The vegetative and reproductive structure of Papaya (*Carica papaya*). **Lyonia**, Hawaii, v. 1, p. 191-208, 1980.

FRANZON, R.C.; RASEIRA, M.do C.B. Germinação *in vitro* e armazenamento do pólen de *Eugenia involucrata* DC (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.28, p.18-20, 2006.

GARRETT, A. The Pollination Biology of Papaw (*Carica papaya* L.) in Central Queensland. **Ph.D. thesis**, Department of Biology, Central Queensland University, Rockhampton, Queensland, Australia, 1995.

HISTER, C. A. L.; TEDESCO, S. B.; Estimativa da viabilidade polínica de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) através de distintos métodos de coloração. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 18, n. 1, p.135-141, 2016.

MENEZES, F. S.; DANTAS, J. L. L. Estabelecimento de coleção nuclear de mamão. In: REUNIÃO ANUAL DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÃO E CULTURA NO RECÔNCAVO DA BAHIA - RECONCITEC, 3., Cruz das Almas. **Anais...** Cruz das Almas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2014. E-Book.

MUNHOZ, M. Á. R. C. I. A.; LUZ, C. F. P.; MEISSNER, F. P. E.; BARTH, O. M.; REINERT, F. Viabilidade polínica de *Carica papaya* L.: uma comparação metodológica. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 31, n. 2, p. 209-214, 2008.

KHANDURI, V. P. Variation in Anthesis and Pollen Production in Plants. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v. 11, n. 6, p. 834-839, 2011.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative in high osmolarity for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 27, p. 137 - 138A, 1965.

KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologist**. Niwot: University of Colorado, 1993. 583 p.

PHUANGRAT, B.; PHIRONRIT, N.; SON-ONG, A.; PUANGCHON, P.; MEECHAI, A.; WASEE, S.; KOSITRATANA, W.; BURNS, P. Histological and Morphological Studies of Pollen Grains from Elongata, Reduced Elongata and Staminate Flowers in *Carica papaya* L. **Tropical Plant Biology**, Thailand, v. 6, p. 210-216, 2013.

RAYNAL, A.; RAYNAL, J. Une technique de préparation des grains de pollen fragiles. **Adansonia**, Paris, v.2, n.11, p. 77-79, 1979.

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. 2018.

RODRIGUEZ-RIANO, T. & DAFNI, A. 2000. A new procedure to asses pollen viability. **Sexual Plant Reproduction**, v. 12, p. 241-244.

SATISH, D.; RAVIKUMAR, R.L. 2010. Standardization of *in vitro* pollen germination media in selected varieties of cotton and tomato. **Karnataka Journal of Agricultural Sciencesm**, v. 23, p. 317-319.

SILVA, R. L.; SOUZA, E. H.; VIEIRA, L. J.; PELACANI, C. R. ; SOUZA, F. V. D. Cryopreservation of pollen of wild pineapple accessions. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 219, p. 326-334, 2017.

SOARES, T. L.; SILVA, S. O.; COSTA, M. A. P. C.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, A. S.; LINO, L. S. M.; SOUZA, E. H.; JESUS, O. N. *In vitro* germination and viability of pollen grains of banana diploids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 8, p. 111-118, 2008.

SOUSA, A. S.; SANTOS, F. A. R.; REGO, E. J. L. Viability and action of CPL lectin on *in vitro* germinability of pollen grains of *Malpighia emarginata* DC. (Malpighiaceae). **American Journal of Plant Sciences**, Washington, D. C. v.4, p 53-58, 2013.

SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; ROSSI, M. L.; BRANCALLEÃO, N.; LEDO, C. A.S.; MARTINELLI, A. P. Viability, storage and ultrastructure analysis of *Aechmea bicolor* (Bromeliaceae) pollen grains, an endemic species to the Atlantic forest. **Euphytica**, v. 44, p. 37-42, 2014.

SORKHEH, K.; SHIRAN, B.; ROUHI, V.; KHODAMBASHI, M.; WOLUKAU, J.N. & ERCISLI, S. 2011. Response of *in vitro* pollen germination and pollen tube growth

of almond (*Prunus dulcis* Mill.) to temperature, polyamines and polyamine synthesis inhibitor. **Biochemical Systematics and Ecology** 39: 749-757.

STANLEY, R.G. & LINSKENS, H.F. 1974. Pollen: biology, biochemistry and management. **Springer-Verlag**, Berlin.

SUKETI, K.; TUHAREA, C. I.; WIDODO, W. D.; POERWANTO, R. Pollen Viability and Pollen Tube Growth of IPB's Papaya. **Journal of agronomy**, Indonésia, v.1, p. 43-48 , 2011.

TEIXEIRA DA SILVA J. A.; RASHID, Z.; NHUT, D. T.; SIVAKUMAR, D.; GERA, A.; JRMT, S.; TENNANT, P. F. 2007 Papaya (*Carica papaya* L.) biology and biotechnology. **Tree and forestry Science and Biotechnology**, v.1, p. 47–73.

TRAUB, H.P. & O'RORK, C.T. 1936. Papaya pollen germination and storage. **Proceeding of the American Society for Horticultural Science** 34:18.

VIEIRA, A.; RUGGIERO, C.; MARIN, S. L. D. Fitotoxicidade de fungicidas, acaricidas e inseticidas, sobre o mamoeiro (*Carica papaya* L.) Cultivar Sunrise Solo Improved Line 72/12 em condições de campo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 23, n. 2, p. 315-319, 2001.

ZAMBON, C. R. et al. Estabelecimento de meio de cultura e quantificação da germinação de grãos de pólen de cultivares de marmeleiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 400-407, 2014.

ZHAO, D. (2009) Control of anther cell differentiation: teamwork of receptor-like kinases. **Sexual Plant Reproduction**, Berlin, v.22, p.221–229.

ZINI, L. M.; CARRERA, C. S.; LATTAR, E. C.; FERRUCCI, M. S (2017). Pollen morphology in selected species of Caricaceae with special reference to novel palynological characters. **Botany**, National Research Council of Canada, v. 96, p. 1-25.

ARTIGO 2

MORFOANATOMIA E RECEPTIVIDADE DO ESTIGMA DE ACESSOS DE MAMOEIRO (*Carica papaya* L.)¹

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Science Horticulturae, em versão na língua inglesa.

Morfoanatomia e receptividade do estigma de acessos de mamoeiro (*Carica papaya* L.)

Resumo: Estudos sobre a morfoanatomia do estigma em diferentes acessos de *Carica papaya* L. e seu nível de receptividade têm sido importantes para auxiliar a classificação taxonômica da espécie, além de subsidiar ações que envolvem polinizações controladas entre futuros parentais de interesse. Estes estudos visam, sobretudo, a compreensão botânica da espécie e a sua função e reação na planta principalmente às relacionadas à fertilização. Este trabalho teve como objetivo caracterizar a morfoanatomia de estigmas em 10 acessos promissores de *Carica papaya* L. além de observar a velocidade de reação enzimática para receptividade estigmática, utilizando as soluções de alfa-naftil-acetato com fast blue B salt e peróxido de hidrogênio. Os acessos de *Carica papaya* L. apresentam superfície do estigma úmida com a presença de inúmeras papilas estigmáticas tubulosas, alongadas e unicelulares, distribuídas tanto na epiderme interna como na epiderme externa do estigma. O estigma é ereto apresentando estruturas que são unidas desde a base superior do estilete e posteriormente abertas em forma de leque. As reações de receptividade utilizando a solução de alfa-naftil-acetato apresentaram maior intensidade na pós-antese, permanecendo presente em menor escala nas demais fases de desenvolvimento (pré-antese e antese), com a pré-antese apresentando uma reação positiva fraca (+) ou até mesmo não havendo nenhuma reação. Para o método 2, utilizando a solução de peróxido de hidrogênio, as maiores taxas de receptividade ocorreram na fase de antese apresentando reação positiva forte (++) nos acessos CMF 142 e CMF 247 e reação positiva muito forte (+++) nos acessos CMF 022, CMF 026, CMF 075 e CMF 245, seguida da fase pós-antese e pré-antese, respectivamente. Os resultados obtidos por meio deste trabalho fornecem informações que indicam a fase floral (pré-antese, antese, pós-antese) mais propícia à fertilização, além de subsidiar trabalhos futuros a cerca da morfologia botânica da espécie.

Palavras-chave: histologia, microscopia de varredura, peróxido de hidrogênio, alfa-naftil-acetato, antese floral.

Morphology and receptivity of the stigma of accessions of papaya (*Carica papaya* L.)

Abstract: Studies on the morphology of stigma in different accessions of *Carica papaya* L. and their level of receptivity have been important to help the taxonomic classification of the species, besides subsidizing actions that involve controlled pollinations between future parental interest. These studies aim, above all, at the botanical understanding of the species and its function and reaction in the plant, especially those related to fertilization. The objective of this work was to characterize the morphology of stigmas in 10 promising *Carica papaya* L. accessions and to observe the rate of enzymatic reaction for stigmatic receptivity using alpha-naphthyl acetate solutions with fast blue B salt and hydrogen peroxide. The accessions of *Carica papaya* L. present a surface of the wet stigma with the presence of numerous tubular stigmatic papillae, elongated and unicellular, distributed both in the internal epidermis and in the external epidermis of the stigma. The stigma is erect having structures which are attached from the upper base of the stylet and thereafter opened in the form of a fan. The receptivity reactions using the alpha-naphthyl acetate solution presented higher intensity in the post-anthesis, being present in a smaller scale in the other phases of development (pre-anthesis and anthesis), with the pre-anthesis presenting a weak positive reaction (+) or even with no reaction. For method 2, using the hydrogen peroxide solution, the highest receptivity rates occurred in the anthesis phase, presenting a strong positive reaction (++) in the accessions CMF 142 and CMF 247 and very strong positive reaction (+++) in the accessions CMF 022, CMF 026, CMF 075 and CMF 245, followed by the post-anthesis and pre-anthesis phase, respectively. The results obtained through this work provide information indicating the floral phase most favorable to fertilization, besides subsidizing future works about the botanical morphology and taxonomy of the species.

Key words: histology, scanning microscopy, hydrogen peroxide, alpha-naphthyl acetate, floral anthesis.

INTRODUÇÃO

Carica papaya L. é a única espécie da família Caricaceae Dumort. que produz mamão de valor comercial. O Brasil, desde 2015, é considerado o segundo maior produtor da fruta, ficando responsável por cerca de 12,7 % de toda produção mundial (FAOSTAT, 2018). Os frutos de mamoeiro com maior aceitação no mercado brasileiro são os oriundos de plantas hermafroditas, devido, basicamente, ao tipo da flor que favorece características específicas ao fruto, como: formato alongado e piriforme (forma de pêra), cavidade interna menor e espessura da polpa maior (COSTA; PACOVA, 2003; MING et al., 2007).

Atualmente, programas de melhoramento genético de mamoeiro tem focado na obtenção de novas variedades que sejam resistentes tanto aos fatores bióticos quanto abióticos, e que atendam às exigências do mercado interno e externo e também aos produtores rurais (DANTAS; LIMA, 2001; RUGGIERO et al., 2011).

Compreender os aspectos da biologia reprodutiva de diferentes acessos da espécie tem sido uma alternativa para o conhecimento prévio sobre os possíveis parentais de interesse capazes de serem utilizados em futuros cruzamentos e/ou hibridações (BERNARDELLO et al., 2001; SOUZA, 2016).

O conhecimento sobre a morfoanatomia do estigma de diferentes acessos de *C. papaya* L. e seu nível de receptividade têm sido importantes para subsidiar ações que envolvam polinizações controladas (HESLOP-HARRISON, 1992). Além disso, estes estudos são capazes de avaliar futuramente interações entre agentes polinizadores, grãos de pólen previamente conservados e estigmas, influenciando a taxa de fertilização e formação de frutos e sementes (GALEN, 1987b; LENZI; ORTH, 2004).

A receptividade do estigma é um processo que pode ocorrer apenas durante alguns dias, ou até mesmo algumas horas (HESLOP-HARRISON, 1992), já que está ligada à várias atividades enzimáticas instantâneas como peroxidase, esterase e desidrogenase, que podem ocorrer nas mais diferentes fases do desenvolvimento floral (KNOX, 1984; GALEN E PLOWRIGHT, 1987a; HESLOP-HARRISON E SHIVANNA, 1977; SHIVANA; RANGASWAMY, 1992; DAFNI E MAUÉS, 1998). Estes processos enzimáticos tornam-se responsáveis por fatores

que interferem no sucesso da germinação do grão de pólen, desenvolvimento /penetração do tubo polínico no estigma e, provavelmente, nas respostas de incompatibilidade entre possíveis parentais de interesse (HESLOP-HARRISON et al., 1975; KULLOLI et al., 2010; SOUZA, 2016).

A receptividade do estigma pode ser medida de várias maneiras. O uso de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é uma das estratégias mais utilizadas na pesquisa, devido à fácil condução e aplicabilidade, além de proporcionar resultado imediato e por ser de baixo custo. Esta solução possui em sua composição, enzimas denominadas 'peroxidases' que agem sobre o estigma quando receptivo e em consequência, promovem a formação de bolhas de ar que podem ser observadas facilmente a olho nu (KEARNS; INOUE, 1993).

Outra metodologia para aferir a receptividade do estigma é a reação de benzidina + peróxido de hidrogênio (DAFNI et al., 1998), que confere ao estigma receptivo a mudança da cor natural para uma coloração azul escuro, além do que, por haver enzimas peroxidases devido à presença do peróxido de hidrogênio, promovem o surgimento de bolhas de ar que são facilmente visualizadas a olho nu. Por outro lado, a metodologia utilizando a reação de α -naftil-acetato com fast blue B salt se torna mais confiável, mesmo que seja de custo mais elevado, pois esta solução se baseia na reação 'esterase' evitando o resultado falso-positivo devido à presença de enzimas esterásticas que promovem a alteração da cor natural do estigma para uma coloração preta ou escurecida quando receptivo (KEARNS; INOUE, 1993).

Em vista disso, esse trabalho teve como objetivo avaliar a morfoanatomia e a receptividade estigmática em diferentes acessos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados grãos de pólen de 10 acessos de mamoeiro da espécie *Carica Papaya* L., a seguir: CMF 020; CMF 022; CMF 026, CMF 055; CMF 070, CMF 075; CMF 123; CMF 142; CMF 245 e CMF 247, pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de Mamão (BAG mamão) da Embrapa Mandioca e

Fruticultura, localizada em Cruz das Almas – BA (Tabela 1). Os acessos foram selecionados com base em estudos que visam posterior estabelecimento de uma coleção nuclear, ou seja, um grupo limitado de acessos que representa a máxima diversidade genética conservada de uma espécie (MENEZES, 2014). A coleta foi realizada em janeiro de 2017 e os grãos de pólen retirados de flores hermafroditas nas fases (pré-antese, antese, pós-antese) sem nenhum tipo de anomalia, considerando o fato que esse tipo de flor produz o fruto comercialmente aceito pelos consumidores brasileiros.

Tabela 1. Tipo de fruto gerado por cada um dos acessos estudados.

Número do acesso	Tipo de fruto
CMF 020	Solo
CMF 022	Formosa
CMF 026	Solo
CMF 055	Formosa
CMF 070	Solo
CMF 075	Formosa
CMF 123	Solo
CMF142	Formosa
CMF 245	Formosa
CMF 247	Formosa

Morfoanatomia do estigma

Para a caracterização morfológica, os estigmas coletados de cada acesso foram imersos e fixados em solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965), com glutaraldeído (2%), paraformaldeído (2%), CaCl_2 (0,001 M), e tampão cacodilato de sódio (0,05 M) com pH ajudado para 7,2, durante um período de 48 horas. Na sequência, os estigmas foram desidratados por meio de uma bateria etílica (35-100%), de 20 min cada e foram secos utilizando CO_2 até o ponto crítico, colocados em suportes metálicos e recobertos com ouro. Fotografias foram obtidas por meio de um microscópio eletrônico de varredura LEO 435 VP, de pressão variável (Carl Zeiss, Jena, Alemanha).

Para a caracterização anatômica dos estigmas foi necessária a fixação das amostras na mesma solução de Karnovsky e desidratados por meio de uma

bateria etífica crescente (35-100%). Posteriormente as amostras foram infiltradas e emblocadas utilizando o kit historesina (Leica Heidelberg).

A polimerização da resina ocorreu em temperatura ambiente por 48 horas e as amostras foram coladas em suportes de madeira, posteriormente, os cortes histológicos seriados (4-5 μm) foram feitos utilizando um micrótomo rotativo Leica RM 2155 (Leica, Nussloch, Alemanha). Os melhores cortes ficaram dispostos sob lâminas e em seguida corados com fucsina ácida (0,1% p/v), seguido de azul de toluidina (0,05% p/v) (FEDER; O'BRIEN, 1968). Ao final, os cortes foram analisados e fotografados em fotomicroscópio Axioskop 2 (Carls Zeiss, Alemanha).

Receptividade do estigma

A receptividade do estigma foi avaliada nas diferentes fases de desenvolvimento floral: pré-antese, antese e pós-antese, com três repetições a partir de dois tipos de metodologias.

A metodologia 1, consistiu na imersão dos estigmas em α -naftil-acetato com tampão fosfato, acetona e fast Blue B salt por aproximadamente 5 minutos, e em seguida, lavados com água destilada. A avaliação da receptividade por essa metodologia consiste na observação visual da mudança da cor natural da superfície estigmática para uma cor escurecida em diferentes escalas (PEARSE, 1972; DAFNI, 1992).

A metodologia 2, consistiu da imersão dos estigmas em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) por aproximadamente 3 minutos até o surgimento de bolhas de ar, visivelmente observadas a olho nu. Esta reação se deu pelo contato do peróxido de hidrogênio com enzimas peroxidases presentes nos estigmas receptivos (ZEISLER, 1933). Além disso, cuidados ao retirar as pétalas das flores foram tomados para que não houvesse constatação de cortes ou danos nos estigmas submetidos a este tipo de método, evitando assim, resultados falsos-positivos.

A avaliação do grau de receptividade dos estigmas se baseou na metodologia adaptada por Dafni e Maués (1998), onde se estabelecem notas que

variam em 0, 1, 2 e 3. A média entre as repetições resulta em uma classificação da intensidade de receptividade a partir de uma escala de notas (Tabela 2).

Tabela 2. Escala de notas para definir a intensidade de receptividade nos acessos.

Notas	Escala de notas	Intensidade de receptividade
0	0 – 0,33	sem reação
1	0,34 – 1,33	reação positiva fraca (+)
2	1,34 – 2,66	resposta positiva forte (++)
3	2,67 – 3,00	resposta positiva muito forte (+++)

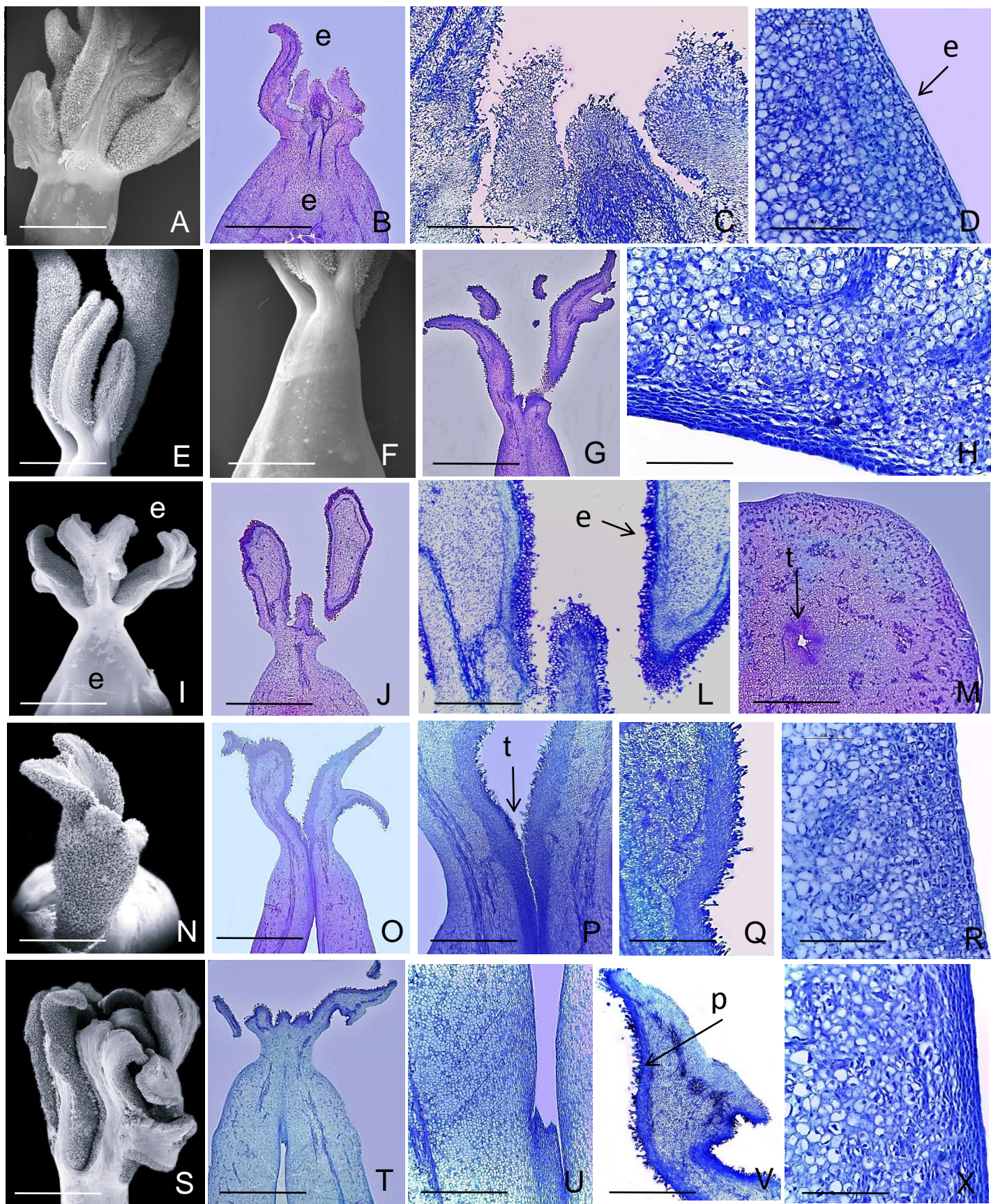
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfoanatomia do estigma

Os acessos de *Carica papaya* L. apresentam superfície do estigma úmida com a presença de inúmeras papilas estigmáticas tubulosas, alongadas e unicelulares, distribuídas tanto na epiderme interna como na epiderme externa do estigma. Segundo Font Quer (1975), o termo papila se refere ao mais simples dos tricomas, sendo definida como uma proeminência da parede das células epidérmicas. O tecido transmissor é fino e segue centralmente posicionado por todo o comprimento do estilete chegando até o ovário (Figura 1-P).

O estigma é ereto apresentando estruturas que são unidas desde a base superior do estilete e posteriormente abertas em forma de leque (Figura 2-M), promovendo assim, uma maior área de superfície disponível para aderência dos grãos de pólen. Em ambos os acessos de *C. papaya* L., o estigma é formado por uma epiderme uniestratificada com parênquima fundamental caracterizado pela presença de feixes vasculares.

A coloração do estigma varia de verde intenso em fase de pré-antese, ao amarelado na pós-antese, quando as flores já estão mais maduras e em processo de deiscência.



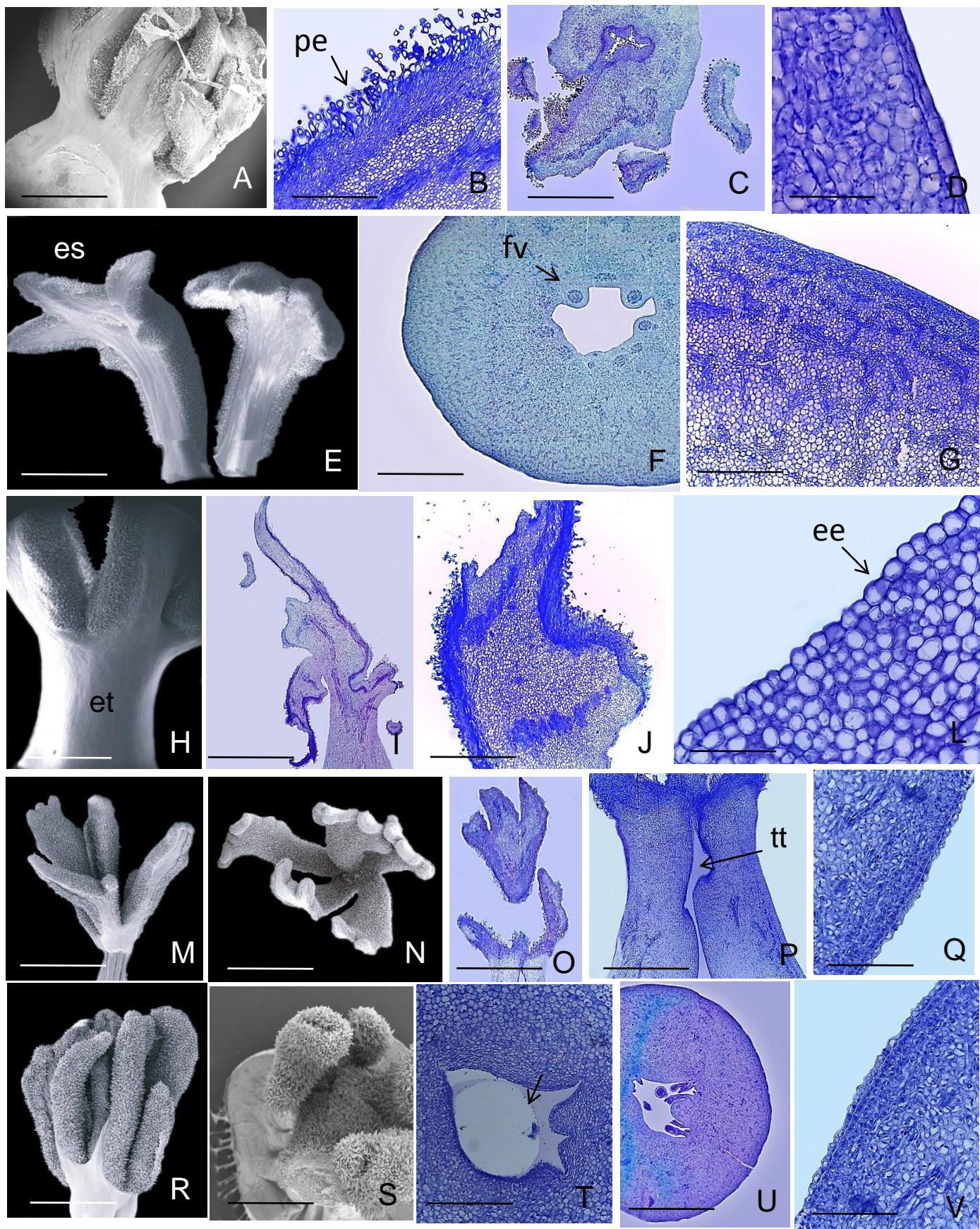


Figura 1. Morfologia do estigma em diferentes acessos da espécie *C. papaya* L. A-D) CMF 020; E-H) CMF 022 I-M) CMF 026; N-R) CMF 055; S-X) CMF 070. Secções anatômicas observadas em microscópio de luz (ML) (B, C, D, G, H, J, L, M, O, P, Q, R, T, U, V, X). Características morfológicas observadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (A, E, F, I, N, S). ee = epiderme externa; ei = epiderme interna; et = estilete; es = estigma; pe = papilas estigmáticas; tt = tecido de transmissão. Barras: (A, E, F, I, N, S) = 500 μ m; (C, D, H, L, P, Q, R, U, X) = 0,05mm; (B, G, J, M, O, T, V) = 0,02mm.

Figura 2. Morfologia do estigma em diferentes acessos da espécie *C. papaya* L. A-D) CMF 075; E-G) CMF 123 H-L) CMF 142; M-Q) CMF 245; R-V) CMF 247. Secções anatômicas observadas em microscópio de luz (ML) (B, C, D, F, G, I, J, L, O, P, Q, T, U, V). Características morfológicas observadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (A, E, H, M, N, R, S). ee = epiderme externa; ei = epiderme interna; et = estilete; es = estigma; pe = papilas estigmáticas; tt = tecido de transmissão. Barras: (A, E, H, M, N, R, S) = 500 μ m; (B, D, J, L, P, Q, T, V) = 0,05mm; (C, F, G, I, O, U) = 0,02mm.

Receptividade do estigma

As duas metodologias utilizadas nesta pesquisa foram eficientes na aferição da receptividade do estigma em diferentes acessos de *C. papaya* L. Para o método 1, utilizando a solução de alfa-naftil-acetato, a receptividade dos estigmas apresentou-se mais intensa na fase de desenvolvimento pós-antese, com uma reação positiva forte (++) para a maioria dos acessos, a exemplo do CMF 020, CMF 026, CMF 055, CMF 070, CMF 075, CMF 142 e CMF 245. Já para o acesso CMF 123, a receptividade apresentou uma reação positiva muito forte (+++) (Tabela 1).

Apesar das reações se apresentarem com maior intensidade na pós-antese, a receptividade esteve presente nas outras fases de desenvolvimento (pré-antese e antese), sendo que em menor intensidade na pré-antese em que apresentou uma reação positiva fraca (+) ou até mesmo nenhuma reação. Houve variação nos resultados quanto os acessos avaliados por meio do teste de Scott-Knott ($p > 0.01$) (Tabela 1).

É possível afirmar que cada acesso avaliado possui sua particularidade quanto ao nível de intensidade de reação utilizando o método 1. O acesso CMF 020, por exemplo, apresentou taxas mais elevadas e mais equilibradas de

receptividade utilizando-se alfa-naftil-acetato em todas as fases de desenvolvimento, quando comparado aos demais acessos.

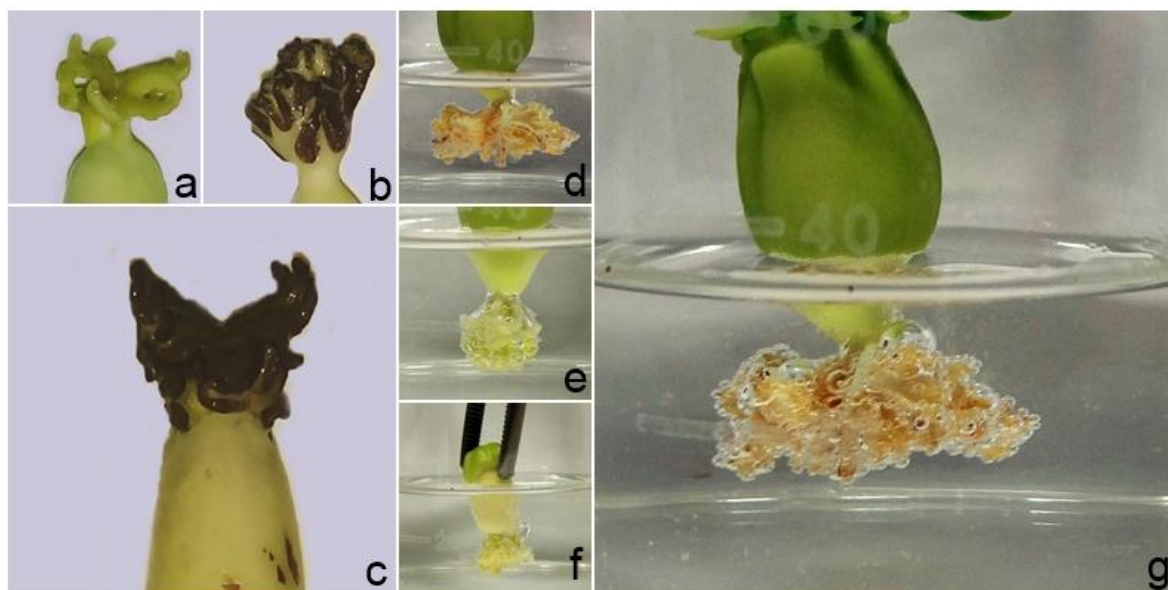


Figura 3. Receptividade do estigma por meio de dois métodos. a, b, c) Alfa naftil acetato; d, e, f, g) Peróxido de hidrogênio. a, d) sem reação; f) reação positiva fraca (+); b, e) reação positiva forte (++); c, g) reação positiva muito forte (+++).

Tabela 1. Resultados correspondentes às médias das notas obtidas entre as repetições utilizando os métodos 'alfa naftil acetato' e 'peróxido de hidrogênio' em diferentes fases de desenvolvimento floral.

Acesso	Método 1 - α naftil acetato		
	Pré-antese	Antese	Pós-antese
CMF 020	1,00 aB	2,33 aA	2,66 aA
CMF 022	1,00 aB	2,33 aA	1,33 bAB
CMF 026	0,33 bB	1,33 aA	2,33 aA
CMF 055	0,00 bC	1,33 aB	2,66 aA
CMF 070	0,66 aA	0,66 bA	1,66 bA
CMF 075	0,33 bB	2,33 aA	2,66 aA
CMF 123	0,33 bB	2,00 aA	3,00 aA
CMF 142	0,66 aB	0,66 bB	2,00 bA
CMF 245	0,33 bB	0,33 bB	2,66 aA
CMF 247	1,33 aA	2,00 aA	1,33 bA

Método 2 - Peróxido de hidrogênio			
Acesso	Pré-antese	Antese	Pós-antese
CMF 020	1,33 aB	2,33 aAB	2,66 aB
CMF 022	0,66 aB	3,00 aA	3,00 aA
CMF 026	0,00 bB	3,00 aA	2,66 aA
CMF 055	0,66 aB	2,33 aA	1,00 bB
CMF 070	0,33 bB	2,33 aA	2,33 aA
CMF 075	0,33 bB	3,00 aA	2,66 aA
CMF 123	0,00 bB	2,33 aA	2,00 aA
CMF 142	0,33 bB	2,66 aA	3,00 aA
CMF 245	0,66 aB	3,00 aA	2,66 aA
CMF 247	0,66 aB	2,66 aA	1,33 bB

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p > 0.01$).

Segundo Couto et al., (1999) a receptividade do estigma do mamoeiro fica elevada em diferentes épocas do ano e pode ser observada até mesmo antes da abertura floral. Damasceno Júnior et al., (2009) relatam ainda que a maior receptividade do estigma de mamoeiro é verificada logo após a antese, permanecendo receptiva cerca de dois dias após a abertura floral, o que é confirmado pelos resultados obtidos nesta pesquisa.

Para o método 2, utilizando-se a solução de peróxido de hidrogênio, os resultados de receptividade foram semelhantes. Assim como na solução de alfa-nafitil-acetato, os resultados variaram quanto aos acessos avaliados por meio do teste de Scott-Knott ($p > 0.01$) (Tabela 1).

As maiores taxas de receptividade, no entanto, ocorreram na fase de antese apresentando reação positiva forte (++) nos acessos CMF 142 e CMF 247 e reação positiva muito forte (+++) nos acessos CMF 022, CMF 026, CMF 075 e CMF 245, seguida da fase pós-antese e pré-antese, respectivamente, sendo que na pré-antese não houve sequer reação, exceto para o acesso CMF 020 com reação positiva fraca (+).

Sendo assim, levantando a hipótese de que botões florais na pré-antese apresentam estigmas receptivos e que grãos de pólen de flores hermafroditas estejam viáveis, o mamoeiro pode apresentar, dependendo do acesso, um

fenômeno denominado cleistogamia, no qual a fecundação ocorre antes mesmo da antese (BORÉM; MIRANDA, 2009).

Este fenômeno pode se tornar um problema para os programas de melhoramento genético, já que o melhorista não poderia garantir a pureza nas hibridações. A emasculação das flores tem se tornado uma alternativa para contornar esse fenômeno. Este processo consiste na retirada das anteras das flores hermafroditas antes mesmo destas produzirem pólenes viáveis e efetuarem a autofecundação.

Os resultados obtidos por meio deste trabalho tornam-se importantes não somente para aferir a intensidade e velocidade de reação da receptividade entre diferentes fases de desenvolvimento e acessos promissores aos programas de melhoramento genético, mas também fornecem informações a respeito do manejo que deve ser adotado antes mesmo de se iniciar as atividades específicas do melhoramento. Adicionalmente e não menos importante, esses resultados podem subsidiar trabalhos voltados para a taxonomia da espécie.

CONCLUSÃO

1. A morfoanatomia segue um padrão semelhante em todos os acessos avaliados de *C. papaya* L., podendo se diferenciar apenas na sua forma natural quanto à fase de desenvolvimento vegetal;
2. As soluções de peróxido de hidrogênio e o alfa-naftil-acetato utilizados nesta pesquisa foram eficientes na aferição da receptividade do estigma em diferentes acessos de *C. papaya* L.;
3. A receptividade do estigma em alguns acessos de *C. papaya* L. pode ocorrer antes mesmo da abertura floral, mantendo-se presente com maior intensidade na antese e pós-antese;
4. A pré-antese é a fase menos propícia para iniciar hibridações controladas, devido à baixa ou mesmo à ausência de receptividade estigmática.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNARDELLO, G.; ANDERSON, G. J.; STUESSY, T. CRAWFORD, D., 2001. A survey of floral traits breeding system, floral visitors, and pollination systems of the angiosperms of the Juan Fernandez Islands (Chile). **Revista de Botânica**, v. 67, p. 255–308.

BORÉM, ALUÍZIO; MIRANDA, G. V (2009) Melhoramento de plantas. 5ª Edição. Viçosa: UFV, 529p.

COUTO, F. A. D.; NACIF, S. R. Hibridação em mamão. In: BORÉM, A. (Ed.). **Hibridação artificial de plantas**. Viçosa: UFV, pp. 307-329, 1999.

COSTA, A. D. F. S. D.; PACOVA, B. E. V. (2003). Caracterização de cultivares, estratégias e perspectivas do melhoramento genético do mamoeiro. In: MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. de F. S. da. (Eds.). **A cultura do mamão: tecnologia e produção**. Vitória-ES: INCAPER. cap. 3, pp. 59-102, .2003.

DAFNI, A. **Pollination ecology: a practical approach** (the practical approach series). Oxford: Oxford University Press, 1992. 250 p.

DAFNI, A.; MAUÉS, M. M. A rapid and simple procedure to determine stigma receptivity. **Sexual Plant Reproduction**, Berlin, v.11, p. 177-180, 1998.

DAMASCENO JÚNIOR, P. C.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SILVA, F. F.; SOUZA, M. DE M.; NICOLI, R. G. Preferential reproduction mode of hermaphrodite papaya plant (*Carica papaya* L; Caricaceae). **Revista Brasileira Fruticultura**, São Paulo, v. 31, n.1, p. 182-189, 2009.

DANTAS, J. L. L.; LIMA, J. F. Seleção e recomendação de variedades de mamoeiro - Avaliação de linhagens e híbridos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 23, p. 617-621, 2001.

FAOSTAT (2018). **FaoStat: agriculture date**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 1 Maio de 2017.

FEDER, N.; O'BRIEN, T. P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, New York, v.55, p. 123-142, 1968.

FISHER, J. B. The vegetative and reproductive structure of Papaya (*Carica papaya*). **Lyonia**, Hawaii, v. 1, p. 191-208, 1980.

FONT-QUER, P. 1975. **Diccionario de botánica**. 5a ed. Editorial Labor, Barcelona

GALEN, C.; PLOWRIGHT, R. C. 1987a. Testing accuracy of using peroxidase activity to indicate stigma receptivity. **Canadian Journal of Botany**, 65, 107–111.

GALEN, C.; ZIMMER, K. A.; NEWPORT, M. E. Pollination in floral scent morphs of *Polemonium viscosum*: A mechanism for disruptive selection on flower size. **Evolution**, Iowa, v. 41, p. 599-606, 1987b.

HESLOP-HARRISON, J. S. 1992. The angiosperm stigma. In: Cresti, M., Tiezzi, A. (Eds.), **Sexual Plant Reproduction**. Springer-Verlag, Berlin, pp. 59–68.

HESLOP-HARRISON, Y., SHIVANNA, K.R., 1977. The receptive surface of the Angiospermstigma. **Annals of Botany**. 41, 1233–1258.

HESLOP-HARRISON, J.; HESLOP-HARRISON, Y.; BARBER, J. 1975. The stigma surface incompatibility responses. **The Royal Society**. Londres, pp. 287–297.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative in high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 27, p. 137 - 138, 1965.

KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologist**. Niwot: University of Colorado, p. 583, 1993, 583p.

KNOX, R. B. 1984. Pollen-pistil interaction. In: Linskens, H.F., Heslop-Harrison, J.(Eds.), **Cellular Interactions**. Springer, Berlin.

KULLOLI, S. K.; RAMASUBBU, R.; SREEKALA, A. K.; PANDURANGAN, A.G. 2010. Cytochemical localization of stigma-surface esterase in three species of Impatiens(Balsaminaceae) of Western Ghats. **Asian journal of experimental biological sciences**. v.1, pp. 106–111.

MENEZES, F. S.; DANTAS, J. L. L. Estabelecimento de coleção nuclear de mamão. In: REUNIÃO ANUAL DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÃO E CULTURA NO RECÔNCAVO DA BAHIA - RECONCITEC, 3., Cruz das Almas. **Anais....** Cruz das Almas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2014. E-Book.

MING, R.; YU, Q.; MOORE, P. H. **Sex determination in papaya**. Seminars in cell & developmental biology. Academic Press, v.18, n. 3, p. 401-408, 2007.

LENZI, M., ORTH, A.I., 2004. Floral biology of Schinus terebinthifolius raddi(Anacardiaceae) in sandbank areas of santa catarina island, Brazil. **Biotemas** 17,67–89.

PEARSE, A. G. E. **Histochemistry, theoretical and applied**. 2. Ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1972. 631 p.

RUGGIERO, C.; MARIN, S.L.D.; DURIGAN, J.F. Mamão, uma história de sucesso. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n.especial, p. 76-82, 2011.

SHIVANA, K. R.; RANGASWAMY, N. S. 1992. Pollen Biology: A Laboratory Manual. **Springer**, Berlin.

SOUZA, E. H.; CARMELLO-GUERREIRO. M. S.; SOUZA, F. V. D.; ROSSI, M. L.; MARTINELLI, A. P. Stigma structure and receptivity in Bromeliaceae. **Scientia Horticulturae**; Bélgica, p. 118-125, 2016.

ZEISLER, M. Über die Abgrenzung des eigentlichen Narbenfläche mit Hilfe von Reaktionen. **Beihefte zum Botanischen Centralblatt**, Jena, v. 58, p. 308-318, 1993.

ARTIGO 3

FENOLOGIA DO FLORESCIMENTO EM ACESSOS DO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA DE MAMOEIRO E IMPLICAÇÕES PARA O MELHORAMENTO GENÉTICO¹

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Crop Science of the Crop Science Society of America.

Fenologia do florescimento em acessos do Banco Ativo de Germoplasma de mamoeiro e implicações para o melhoramento genético

Resumo: O Brasil é considerado um dos maiores produtores de mamão, ocupando o segundo lugar no ranking mundial. No entanto, a obtenção de novas cultivares adaptadas às regiões produtoras é prioridade, considerando principalmente, as mudanças climáticas. Estudos sobre a fenologia de florescimento em germoplasma de mamoeiro podem contribuir para a escolha do momento mais propício para realização de hibridações de interesse para o melhoramento. Podem indicar também se há adaptação dos acessos existentes à uma microrregião específica. Em vista do exposto, esse trabalho teve como objetivo analisar a fenologia de florescimento em 119 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mamão durante o ano 2016 a 2017. Os dados climáticos foram obtidos por meio de uma estação meteorológica e os dados referentes à variável número médio de flores produzidas /semana /planta hermafrodita foram submetidos à análise multivariada por meio da técnica de análise de agrupamento (cluster analysis). Os resultados demonstram que há existência de dois picos de floração, sendo que o primeiro coincidiu com a estação da primavera e o segundo com maior pico de produção de flores, no inverno, de abril a julho de 2017. Além disso, utilizando a técnica de análise de agrupamento (cluster analysis) foi possível observar a formação de 3 grupos distintos quanto à produção de flores. Os acessos de maior interesse para o programa de melhoramento genético da Embrapa estão quase que exclusivamente reunidos em um único grupo, com exceção do CMF 070, onde a produção de flores chega a ser superior, em praticamente toda época de avaliação. Os resultados obtidos permitem um mapeamento do florescimento ao longo do ano de 119 acessos do BAG mamão, oportunizando a possibilidade de melhorar o planejamento de hibridações de interesse. Adicionalmente, os resultados auxiliam na identificação de assincronias de florescimento e a necessidade de se conservar grãos de pólen.

Palavras-chave: comportamento de floração, mudanças climáticas, meio ambiente, melhoramento genético.

Flowering phenology in access of the Active Bank of Germoplasma de mamoeiro

Abstract: Brazil is considered one of the largest producers of papaya, taking the second place in the world ranking. However, the production of new cultivars adapted to the productive regions is a priority, mainly taking climate change in consideration. Research on the flowering phenology of the papaya germplasm may contribute to the choice of the most favorable moment to carry out hybridizations of interest to the improvement. They may also indicate whether there is an adaptation of existing accesses to a specific micro-region. Taking this in consideration, the aim of this work is to analyze the flowering phenology in 119 accessions of the Banco Ativo de Germoplasma de Mamão during the year 2016 to 2017. The climatic data was obtained through a meteorological station and the data referring to the variable “average number of flowers produced per week/hermaphrodite plant” was submitted to the multivariate analysis using the cluster analysis. The results show that there are two flowering peaks. The first one coinciding with the spring season and the second one with the highest peak of flower production, during the winter, from April to July 2017. In addition, using the cluster analysis technique, it was possible to observe the formation of three different groups regarding the flower production. The most interesting accesses for Embrapa’s genetic improvement program are almost exclusively gathered in a single group, with the exception of the CMF 070, where the production of flowers is higher, during practically all the evaluation period. The results obtained allow to do a zoning of the flowering throughout the year for 119 accesses of papaya BAG, allowing the possibility of improving the planning of hybrids of interest. In addition, the results help in the identification of asynchrony flowering and the need to conserve pollen grains.

Key words: flowering behavior, climate change, genetic improvement

INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado um dos maiores produtores de mamão, ocupando o segundo lugar no ranking mundial, produzindo cerca de 1,2 milhões de toneladas de frutos ao ano⁻¹ em uma área de aproximadamente 30 mil hectares (IBGE, 2018). Por se tratar de uma frutífera de origem tropical, a cultura adapta-se melhor às condições de clima caracteristicamente quente e úmido. Por isso, as condições climáticas tornam-se ideais quando a temperatura varia de 22 a 26 °C, pluviosidade de 1.800 a 2.000 mm anuais, umidade relativa do ar de 60 % a 85 % e altitudes de até 200 m acima do nível do mar, associadas também ao tipo de solo não muito argiloso e pouco profundo (EMBRAPA, 2009).

A necessidade de lançamento de novas cultivares de mamoeiro adaptadas às condições climáticas das regiões produtoras de mercado interno e externo tem sido apontada por diversos pesquisadores (DANTAS & LIMA, 2001; IDE et al., 2009; RUGGIERO et al., 2011).

Os programas de melhoramento genético têm levado em consideração diversas características agronômicas de interesse simultaneamente, sendo a correlação dessas informações extremamente importante, por permitir a avaliação quantitativa de um caráter em relação à outro, facilitando desta forma, a escolha por métodos de seleção mais apropriados para o objeto de estudo (CRUZ; REGAZZI, 2001).

A seleção de novos genótipos, por sua vez, demanda novas informações, incluindo a fenologia do florescimento, relevante para se avaliar a sincronia de florescimento entre parentais em um cruzamento de interesse. Esses estudos podem contribuir futuramente para a escolha do melhor momento para realização de hibridações dirigidas, além de avaliar a precocidade dos materiais de estudo e a época mais propícia para manutenção de práticas culturais, indicando ainda, a adaptação dos acessos existentes à uma microrregião específica.

A fenologia é uma parte da botânica que auxilia na compreensão das diferentes fases do crescimento /desenvolvimento das plantas, seja a vegetativa (germinação, emergência, crescimento da parte aérea e das raízes) como a reprodutiva (florescimento, frutificação e maturação), caracterizado as diferentes etapas ao longo do ciclo. É uma ferramenta eficaz e que permite o entendimento

de demandas específicas das plantas para atender às diferentes etapas do seu ciclo de produção permitindo a elaboração de recomendações técnicas para o cultivo (GASCHO, 1983).

O entendimento da escala fenológica de um cultivo, facilita o manejo, favorecendo bons rendimentos à cultura. No caso mais específico da fenologia do florescimento, esse conhecimento pode se tornar crucial para um programa de melhoramento, identificando tempos de floração coincidentes entre acessos de interesse, ou mesmo assincronia de florescimento e que possam demandar estratégias específicas para superar essa potencial barreira para uma hibridação dirigida (GASCHO, 1983).

A temperatura é uma das variáveis climáticas mais importantes na fenologia de floração e desenvolvimento de espécies perenes, exercendo papel fundamental em diversas fases e atividades fisiológicas vegetais, tais como, a diferenciação de gemas, dormência, pré-antese de flores, antese e formação de frutos (NAVA et al., 2009). Relatos evidenciam que as mudanças climáticas favoreceram o aumento da temperatura média no Brasil em aproximadamente 0,75 °C até o final do século XX. Esse aquecimento ocorreu em todas as estações do ano, tornando-se mais acentuado nos meses de junho a agosto (MARENGO et al., 2007), implicando mudanças, sobretudo, em outras variáveis climáticas como: precipitação pluviométrica, ventos e umidade relativa do ar.

A Região Nordeste além de possuir temperaturas mais altas no país, apresenta precipitações pluviométricas irregulares com elevada evapotranspiração, características que fazem da água um fator limitante para várias atividades, dentre elas, a agricultura irrigada (BATISTA et al., 2017).

Características como taxas reduzidas de florescimento ao decorrer do ano, causadas por fatores climáticos ou genéticos, podem limitar a realização de novos cruzamentos, dificultando a obtenção de materiais superiormente desejados (TEIXEIRA DA SILVA et al., 2007). Além disso, problemas como temperaturas elevadas têm trazido consequências para os tecidos reprodutivos das plantas, podendo gerar assincronismo no desenvolvimento dos órgãos reprodutivos masculinos e femininos, além de anomalias (HERRERO, 2003, HEDHLY et al., 2008).

Os Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) distribuídos em diversas instituições de pesquisa, armazenam recursos genéticos e são importantes no que se refere à variabilidade genética necessária para subsidiar os testes e programas de melhoramento genético de plantas visando a obtenção de novos materiais (GEPTS, 2006).

Outro aspecto importante sobre a fenologia do florescimento em Bancos de Germoplasma é a possibilidade de subsidiar estratégias de conservação de pólen via criopreservação, tanto como forma de armazenar um *pool* genético importante, como para superar a questão da assincronia do florescimento e anomalias florais.

Esse trabalho teve por objetivo avaliar a fenologia de floração de diferentes acessos do BAG mamão, em um ciclo de 12 meses das plantas, a fim de se obter um mapa de florescimento do germoplasma conservado e subsidiar tanto ações de melhoramento, quanto de conservação. Esse é o primeiro relato desse tipo de estudo em um número tão elevado de genótipos de mamoeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado de setembro de 2016 a agosto de 2017 em plantas hermafroditas de mamoeiro do grupo 'Solo' e 'Formosa' além das testemunhas, pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de mamão (BAG mamão) alocado na Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas – BA, nas coordenadas geográficas 12° 40' 39" de latitude sul e 39° 06' 23" de longitude oeste, com altitude de 226 m (Figura 1).

O estudo sobre a fenologia de floração ocorreu em um total 119 acessos distribuídos aleatoriamente entre as espécies: *C. papaya* L. (101 acessos); *V. cauliflora* (2 acessos); *V. quercifolia* (3 acessos); *V. monoica* (2 acessos); *J. spinosa* (11 acessos), além de 10 testemunhas Golden (2), Sunrise (2), Tainung (4) e Rubi (2), compostas cada acesso ou cada testemunha, por uma fileira de 11 plantas espaçadas em 2m entre plantas e 3 m entre fileiras, totalizando 1419 plantas no experimento distribuídos entre os grupos 'Solo' e 'Formosa' (Tabela 1).



Figura 1. Banco Ativo de Germoplasma de mamoeiro da Embrapa – Mandioca e Fruticultura, ano 2016.

As avaliações ocorreram semanalmente no período de 8:00 h às 11:30 h e a ocorrência de florescimento foi medida a partir da contagem do número de flores na antese em cada planta. Para evitar a dupla contagem de flores na semana subsequente, foi utilizada a marcação nas flores com tinta permanente. Simultaneamente, os dados foram anotados em planilhas de campo e posteriormente lançados em planilha eletrônica.

O sistema de irrigação implantado foi o tipo gotejamento, e os dados sobre as condições ambientais da região como temperatura máxima e mínima, além da precipitação, foram obtidos por meio da estação meteorológica da Embrapa Mandioca e Fruticultura-BA. Os tratos culturais como poda e limpeza da área no experimento foram realizadas frequentemente, utilizando roçadeiras mecânicas entre fileiras e capina manual entre plantas. Além disso, para manutenção da fitossanidade do BAG foram realizadas pulverizações controladas quando necessário.

Os dados do número médio de flores produzidas por semana em plantas hermafroditas foram submetidos à análise multivariada por meio da técnica de análise de agrupamento (cluster analysis) considerando como medida de dissimilaridade a distância euclidiana. Os agrupamentos hierárquicos foram obtidos pelo método UPGMA - Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (SNEATH & SOKAL, 1973). A validação dos agrupamentos foi determinada pelo coeficiente de correlação cofenético de acordo com Sokal e Rohlf (1962).

A significância dos coeficientes de correlação cofenético foi calculada pelo teste de Mantel com 1000 permutações (MANTEL, 1967). O critério para definição do número de grupos foi feito pelo método do pseudo t2 (MINGOTTI, 2005) utilizando o pacote “NbClust” pertencente ao programa computacional R (CHARRAD et al., 2013). Foi utilizado o gráfico tipo Bloxpot para distribuição média das flores entre os acessos, e as análises foram realizadas com auxílio do programa estatístico R (R CORE TEAM, 2018).

Tabela 1. Acessos avaliados do BAG mamão distribuídos entre os grupos ‘Solo’ e ‘Formosa’.

GRUPO	ACESSO	GRUPO	ACESSO	GRUPO	ACESSO	GRUPO	ACESSO	GRUPO	ACESSO
SOLO	CMF 256	FORMOSA	CMF 188	FORMOSA	CMF 075	SOLO	CMF 157	SOLO	CMF 131
SOLO	CMF 114	SOLO	CMF 051	FORMOSA	CMF 245	FORMOSA	CMF 154	FORMOSA	CMF 015
SOLO	CMF 108	SOLO	CMF 050	SOLO	CMF 235	FORMOSA	CMF 028	SOLO	CMF 014
FORMOSA	CMF 255	FORMOSA	CMF 187	SOLO	CMF 072	FORMOSA	CMF 027	FORMOSA	CMF 130
FORMOSA	CMF 102	SOLO	CMF 186	SOLO	CMF 070	FORMOSA	CMF 152	FORMOSA	CMF 129
FORMOSA	CMF 254	FORMOSA	CMF 047	SOLO	CMF 234	SOLO	CMF 150	SOLO	CMF 012
SOLO	CMF 099	FORMOSA	CMF 046	SOLO	CMF 233	SOLO	CMF 026	FORMOSA	CMF 011
SOLO	CMF 094	SOLO	CMF 185	FORMOSA	CMF 069	FORMOSA	CMF 024	SOLO	CMF 128
SOLO	CMF 253	SOLO	CMF 183	FORMOSA	CMF 067	FORMOSA	CMF 146	SOLO	CMF 123
SOLO	CMF 092	FORMOSA	CMF 044	SOLO	CMF 232	FORMOSA	CMF 145	FORMOSA	CMF 008
SOLO	CMF 090	FORMOSA	CMF 041	SOLO	CMF 230	FORMOSA	CMF 023	SOLO	CMF 006
FORMOSA	CMF 252	FORMOSA	CMF 180	FORMOSA	CMF 066	FORMOSA	CMF 022	FORMOSA	CMF 121
SOLO	CMF 088	SOLO	CMF 177	SOLO	CMF 065	FORMOSA	CMF 142	FORMOSA	CMF 120
SOLO	CMF 087	FORMOSA	CMF 040	SOLO	CMF 223	FORMOSA	CMF 139	SOLO	CMF 005
FORMOSA	CMF 251	FORMOSA	CMF 038	FORMOSA	CMF 220	FORMOSA	CMF 021	FORMOSA	CMF 004
SOLO	CMF 250	SOLO	CMF 176	FORMOSA	CMF 060	SOLO	CMF 020	SOLO	CMF 118
SOLO	CMF 082	SOLO	CMF 175	SOLO	CMF 058	FORMOSA	CMF 135	SOLO	CMF 116

SOLO	CMF 079	SOLO	CMF 037	FORMOSA	CMF 219	FORMOSA	CMF 133	FORMOSA	CMF 003
FORMOSA	CMF165	SOLO	CMF 036	FORMOSA	CMF 211	FORMOSA	CMF 018	FORMOSA	CMF 002
SOLO	CMF 210	FORMOSA	CMF 172	SOLO	CMF 056	FORMOSA	CMF 017	FORMOSA	CMF 115
FORMOSA	CMF 207	FORMOSA	CMF 055	FORMOSA	CMF 166	SOLO	CMF 132	SOLO	CMF 249
FORMOSA	CMF 054	FORMOSA	CMF 247	FORMOSA	CMF 030	FORMOSA	CMF 164	SOLO	CMF 248
SOLO	CMF 052	FORMOSA	CMF 246	FORMOSA	CMF 035	FORMOSA	CMF 031	SOLO	CMF 078
SOLO	CMF 204	FORMOSA	CMF 076	SOLO	CMF 077	FORMOSA	CMF 033		

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De maneira geral, o florescimento em plantas hermafroditas de mamoeiro do grupo ‘Solo’ e ‘Formosa’, além das testemunhas, teve início em setembro, ou seja, terceiro mês após o transplante das mudas da casa de vegetação para o campo que foi realizado em junho de 2016.

Considerando os efeitos tanto da temperatura, quanto da pluviometria se observou a maior concentração de flores nos meses de maio a julho e que coincide com os maiores índices pluviométricos e com temperaturas mais baixas (Figura 1). A partir de agosto, quando diminuem as precipitações, se registrou uma queda na produção de flores sugerindo que existe uma forte associação entre os índices pluviométricos e a produção de flores em mamoeiro.

Da mesma forma, quando se registra um ligeiro aumento nas chuvas entre os meses de outubro e dezembro se observa um aumento proporcional na produção de flores.

Em relação às temperaturas, as mudanças são menos marcantes, mas a relação parece inversa. A medida que diminui a temperatura se registra maior número de flores, e onde está o pico de temperatura, exatamente no mês de janeiro, foi onde se registrou a menor produção de flores ao longo do ano.

De acordo com Newstrom (1994), esta dinâmica de florescimento se enquadra no tipo contínua, apresentando tendência sazonal. Considerando as estações do ano esses picos de florescimento coincidem com a primavera e o inverno, onde se registrou a maior intensidade de floração. (Figura 2).

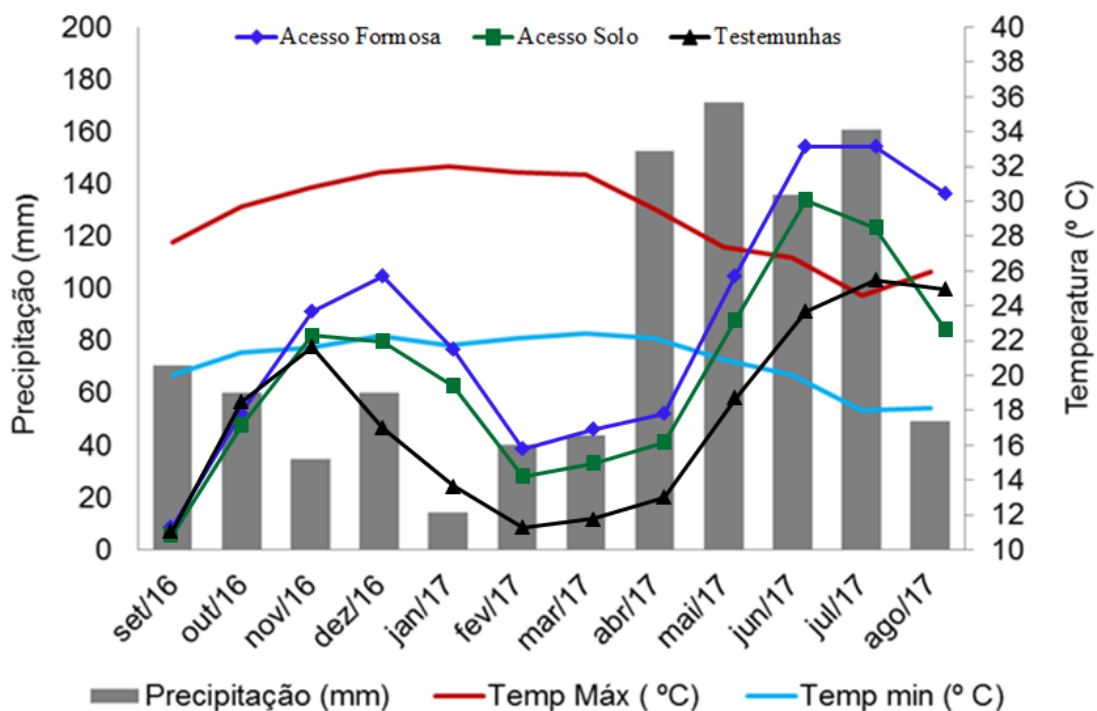


Figura 1. Número médio de flores hermafroditas abertas por mês em diferentes acessos de mamoeiro dos grupos ‘Formosa’ e ‘Solo’, além de testemunhas, pertencentes ao BAG mamão da Embrapa Mandioca e Fruticultura – BA, durante diferentes estações do ano.

Estas seriam, em teoria, as épocas mais propícias para realização de cruzamentos devido ao maior número de flores disponíveis na antese. No entanto, segundo Garrett (1995) a quantidade e viabilidade de grãos de pólen em *C. papaya* L. podem sofrer uma diminuição principalmente no inverno e início de primavera, quando ocorre aumento da umidade relativa do ar e conseqüentemente, presença de umidade nas anteras. Isso deixa evidente que a quantidade de flores é muito importante, mas não é um fator determinante, de forma isolada, para o êxito dos cruzamentos. É preciso considerar a viabilidade polínica, que por sua vez, pode ser bastante afetada pelas condições ambientais, principalmente devido à umidade elevada normalmente que afeta a capacidade germinativa do pólen, como já mencionado anteriormente.

Uma queda significativa na viabilidade de grãos de pólen de mamoeiro foi registrada por Garrett (1995) quando no inverno se observou uma viabilidade de apenas 45% em comparação com os 90% registrados em outra estação menos úmida. A viabilidade polínica é considerada uma medida de fertilidade masculina, responsável por tornar possível a fecundação e a realização de cruzamentos entre genótipos de potencial econômico agrícola (SOARES et al., 2011).

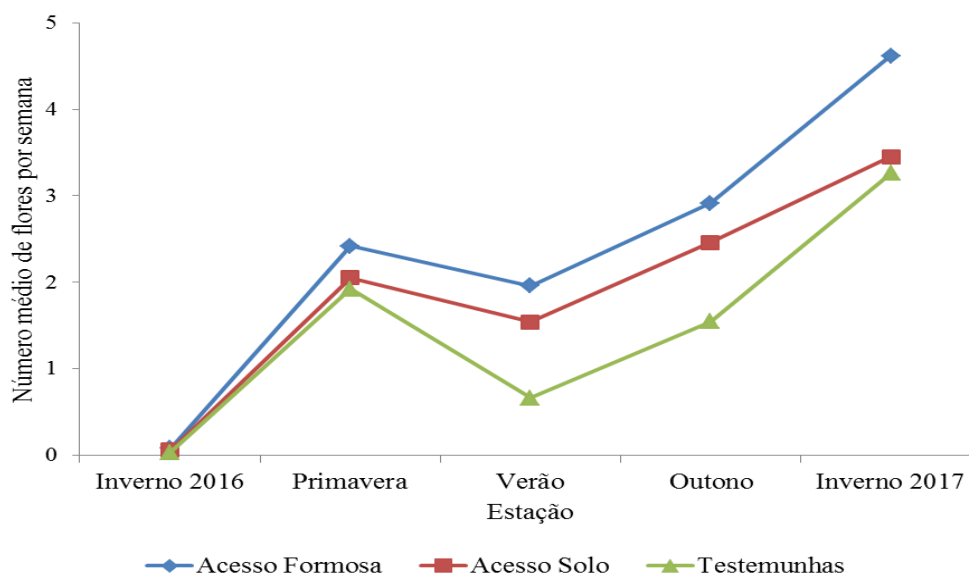


Figura 2. Número médio de flores hermafroditas abertas por semana em diferentes acessos de mamoeiro dos grupos ‘Formosa’ e ‘Solo’ e das variedades testemunha, considerando as estações do ano durante o período de setembro de 2016 a agosto de 2017.

Para Janzen (1967), a floração na estação seca é mais vantajosa para realização de cruzamentos em virtude das condições ambientais serem “mais favoráveis”, já que nesta época não há ventos fortes e chuvas intensas que promovem a queda das flores, favorecendo ainda a presença de polinizadores muito mais ativos. Essa situação deixa bem evidente a importância de se estabelecer a relação quantidade de flores x viabilidade polínica e que precisa ser considerada no planejamento das hibridações.

O comportamento observado seguiu a mesma tendência, tanto para os grupos ‘Solo’ e ‘Formosa’, quanto para a testemunha. No entanto, a maior

produção de flores na antese aconteceu entre os acessos do grupo 'Formosa', produzindo até 4 flores abertas /semana entre os meses de junho a julho de 2017 enquanto para os acessos do grupo 'Solo' a produção média máxima foi de 3 flores abertas /semana durante o mesmo período (Figura 2). Uma observação interessante é que, comparando-se os acessos avaliados com as variedades selecionadas como testemunhas, esses apresentaram maior capacidade de produção de flores em qualquer época do ano, sugerindo maior adaptação às condições edafoclimáticas onde se encontra o BAG. As variedades testemunhas parecem ser muito afetadas pelas altas temperaturas com uma queda marcante na produção de flores durante o verão.

O grupo 'Formosa' é composto por acessos que produzem frutos de tamanho maior e peso variando entre 1,0 a 1,3 kg além possuírem coloração da polpa em tons de laranja-avermelhada, destinados basicamente à comercialização nacional. Já no grupo 'Solo', os frutos possuem frutos geralmente de tamanho pequeno com peso variando de 300 a 650 g, além de possuírem como principal característica a coloração da polpa avermelhada, destinados basicamente à exportação (DIAS et al., 2011).

Quanto às testemunhas, o híbrido 'Tainung' foi introduzido no Brasil, no início da década de 70 e continua, até o presente momento, predominando no mercado nacional dos mamoeiros do grupo 'Formosa'. O Rubi foi obtido a partir da autofecundação do Tainung e a cultivar Sunrise Solo é procedente da Estação Experimental do Havaí (EUA), sendo introduzida no Brasil há mais de 15 anos. Finalmente, o genótipo Sunrise Golden é uma cultivar proveniente de seleção massal de plantas, em campos de produção de Sunrise Solo.

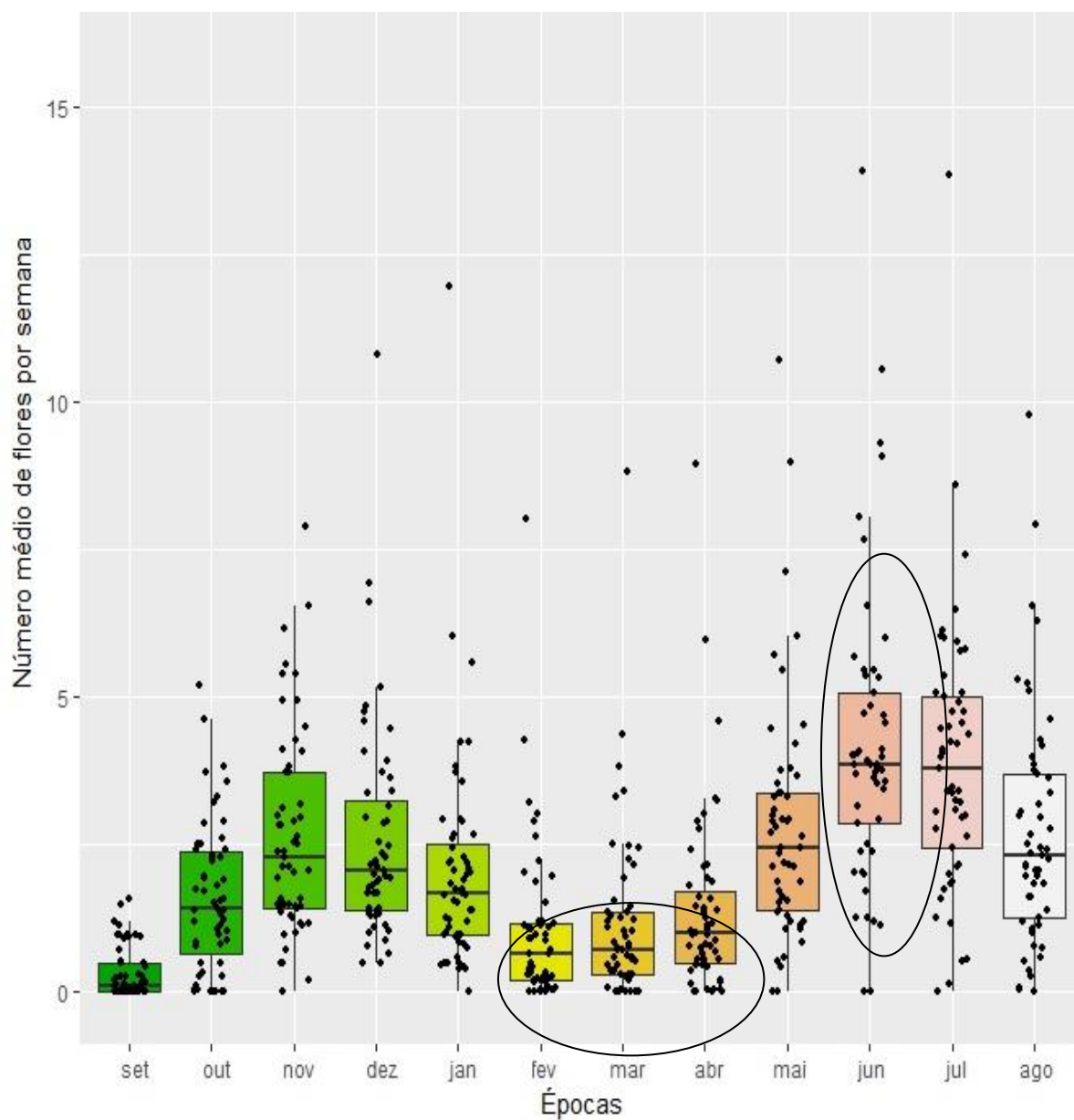


Figura 3. Gráfico de boxplot para número médio de flores hermafroditas abertas por semana ao decorrer do período 2016 /2017 em diferentes acessos de mamoeiro das variedades 'Solo' pertencentes ao BAG mamão da Embrapa Mandioca e Fruticultura – BA, durante diferentes estações do ano.

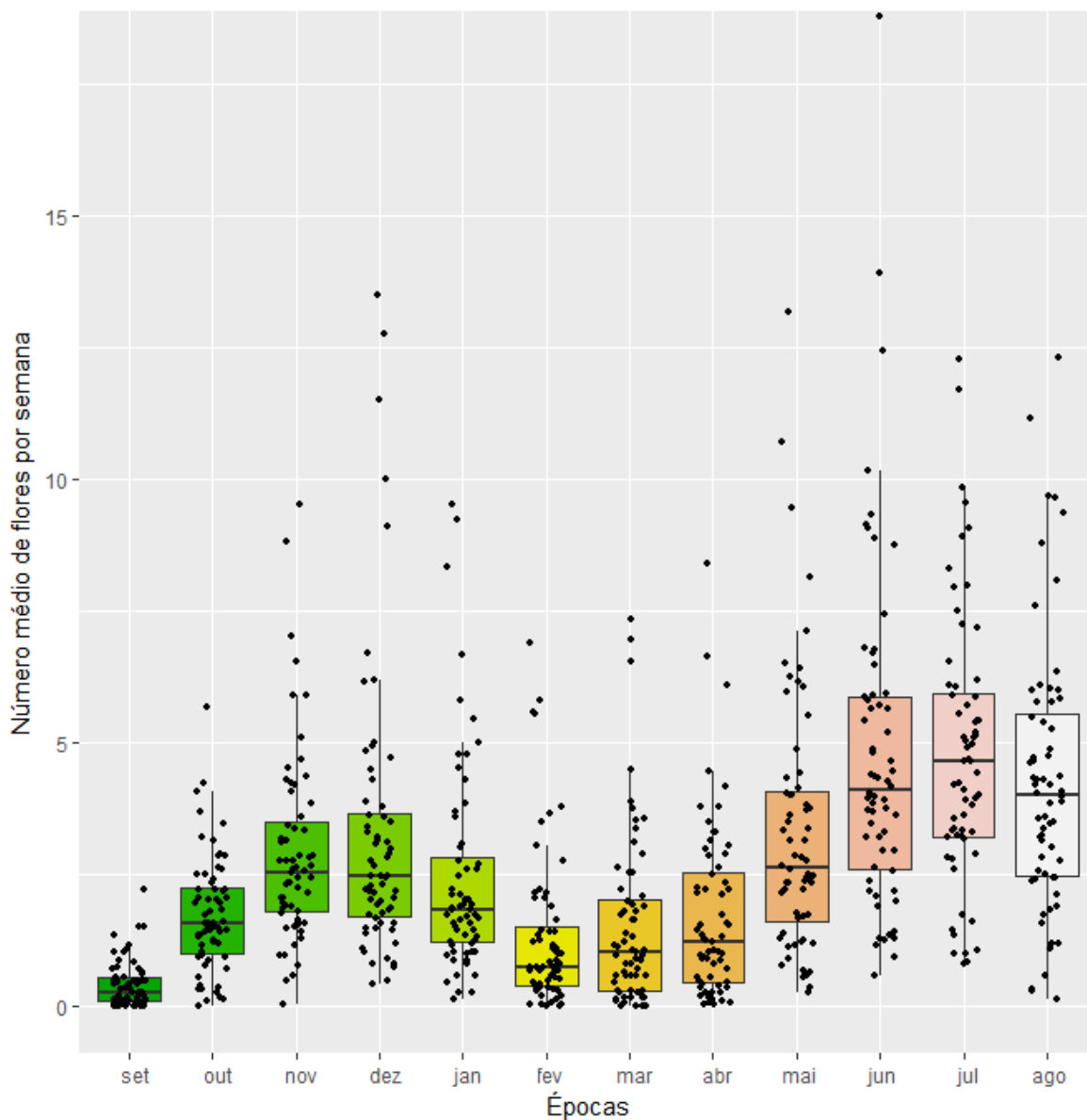


Figura 4. Gráfico de boxplot para número médio de flores hermafroditas abertas por semana ao decorrer do período 2016 /2017 em diferentes acessos de mamoeiro das variedades 'Formosa' pertencentes ao BAG mamão da Embrapa Mandioca e Fruticultura – BA, durante diferentes estações do ano.

Em função dos dados obtidos não apresentarem uma distribuição normal, o gráfico de boxplot (Figuras 3 e 4) fornece informações complementares a cerca da distribuição e concentração dos acessos avaliados a partir da semelhança na produção do número médio de flores abertas em cada mês do ano de avaliação. A mediana é a principal ferramenta de avaliação, subdividindo a concentração total de acessos em 50% na parte superior da mediana e 50% abaixo da mediana.

Avaliando a dispersão dos dados, que é representada pelo tamanho da caixa, parece ser maior nos meses de junho a agosto o que pode sugerir uma maior variabilidade entre os acessos em relação ao número de flores abertas nessa época do ano. Por outro lado, no mês de setembro fica evidente um comportamento bem uniforme dos acessos nessa condição. Cada ponto do gráfico se refere a um acesso, e essa representação possibilita uma visão mais detalhada de como eles se comportam dentro de cada condição, incluindo os que se afastam muito do padrão (*outliers*).

O programa de melhoramento genético para mamoeiro na Embrapa Mandioca e Fruticultura tem priorizado o desenvolvimento de trabalhos envolvendo cruzamentos e hibridações utilizando os acessos: CMF (021, 040, 070, 092, 099, 114, 128, 230, 232 e 234).

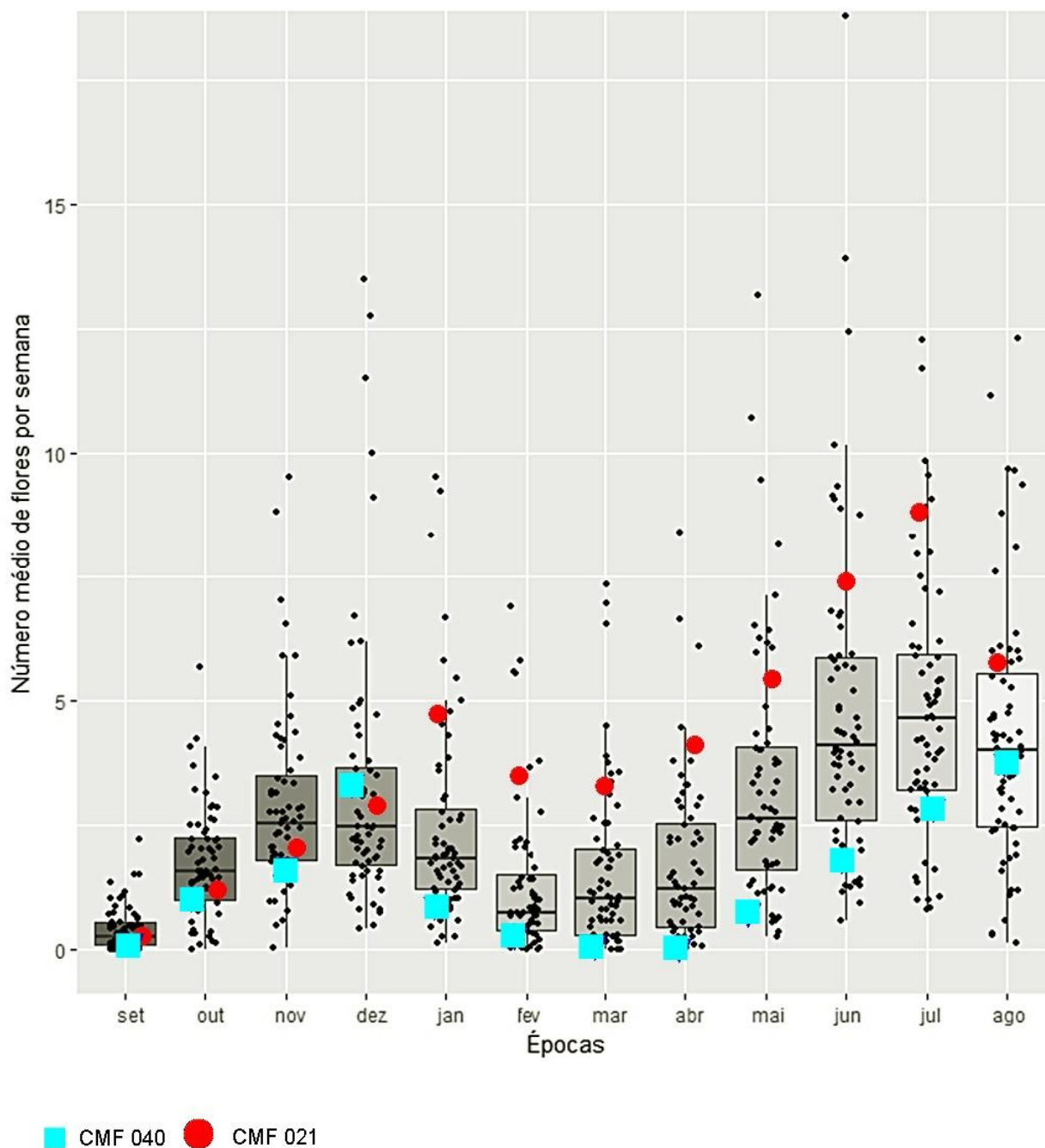


Figura 5. Gráfico de boxplot para número médio de flores hermafroditas abertas por semana ao decorrer do período 2016 /2017 em diferentes acessos de mamoeiro das variedades ‘Formosa’ além da plotagem de florescimento entre os acessos CMF 040 e CMF 021, pertencentes ao BAG mamão da Embrapa Mandioca e Fruticultura – BA.

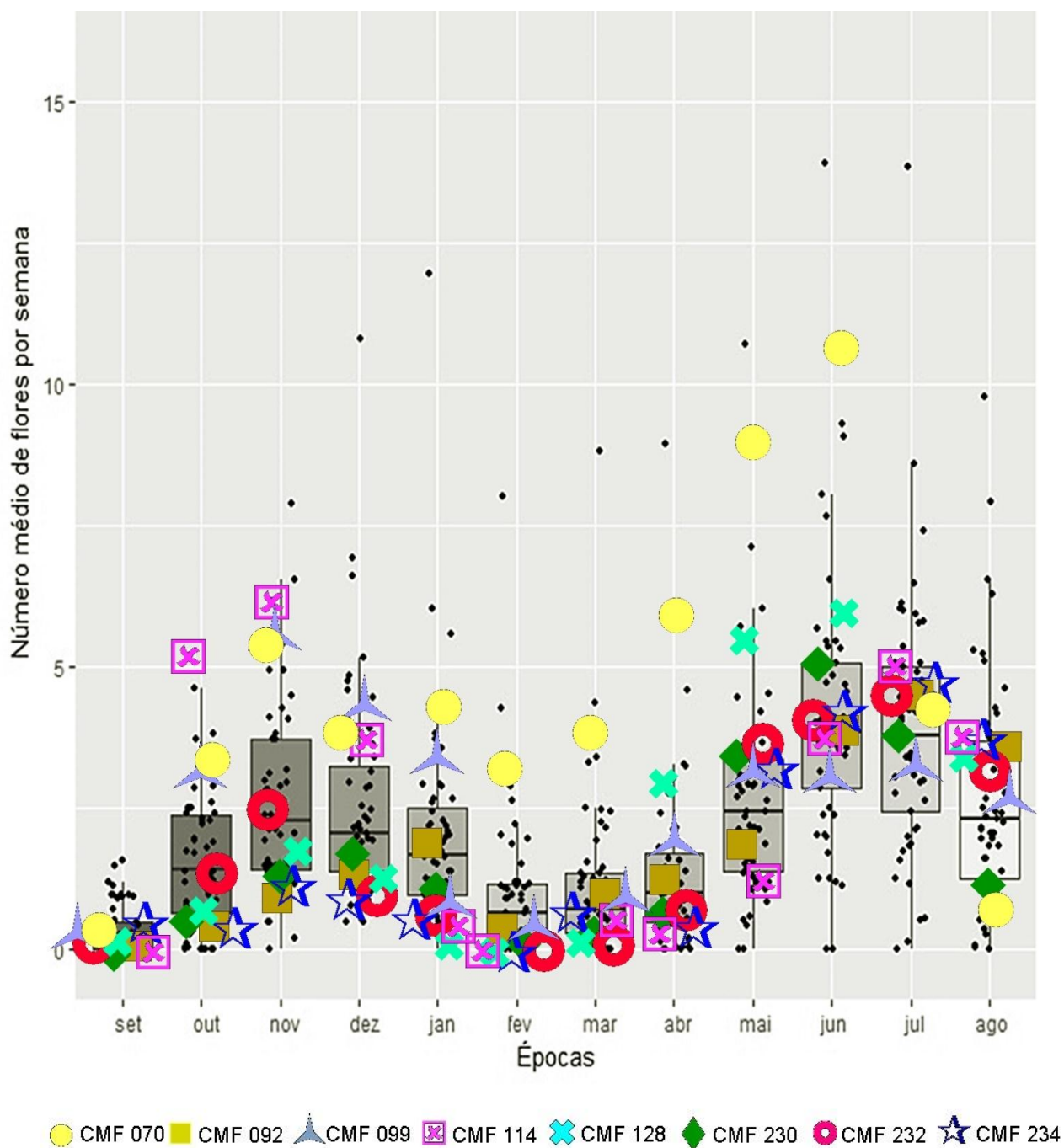


Figura 6. Gráfico de boxplot para número médio de flores hermafroditas abertas por semana ao decorrer do período 2016 /2017 em diferentes acessos de mamoeiro das variedades 'Solo' além da plotagem de florescimento entre os acessos CMF (070, 092, 099, 114, 128, 230, 232, 234), pertencentes ao BAG mamão da Embrapa Mandioca e Fruticultura – BA.

Nas Figuras 5 e 6 é possível identificar esses 10 acessos considerados promissores para o melhoramento do mamoeiro e avaliar seu comportamento entre eles e em relação aos outros acessos, podendo identificar, dessa forma, épocas coincidentes de florescimento ou algum tipo de assincronia que seja mais limitante para a realização de hibridações.

É possível observar, por exemplo que o CMF 070 produz flores o ano todo e em uma escala muito maior que os demais acessos, com exceção apenas para os meses de agosto e setembro. Já como um resultado bem contrastante, o CMF 040 do grupo Formosa tem florescimento escasso quase todo ano, com uma produção discreta no mês de dezembro.

Por outro lado, os acessos do grupo 'Solo' CMF 128, CMF 230, CMF 232 e CMF 234 apresentaram um comportamento de florescimento bastante coincidente ao longo do ciclo, o que facilita qualquer planejamento de hibridação entre eles. Com um comportamento fora do padrão o CMF 114 produz bem nos meses de outubro, novembro e dezembro e o CMF 099 nos meses de novembro e dezembro.

Como informação complementar foi realizada uma análise multivariada utilizando a técnica de análise de agrupamento (cluster analysis) considerando como medida de dissimilaridade a distância euclidiana. A partir dessa análise, foi possível observar a formação de 3 grupos distintos quando é considerado o número de flores abertas (antes) por semana (Figura 7).

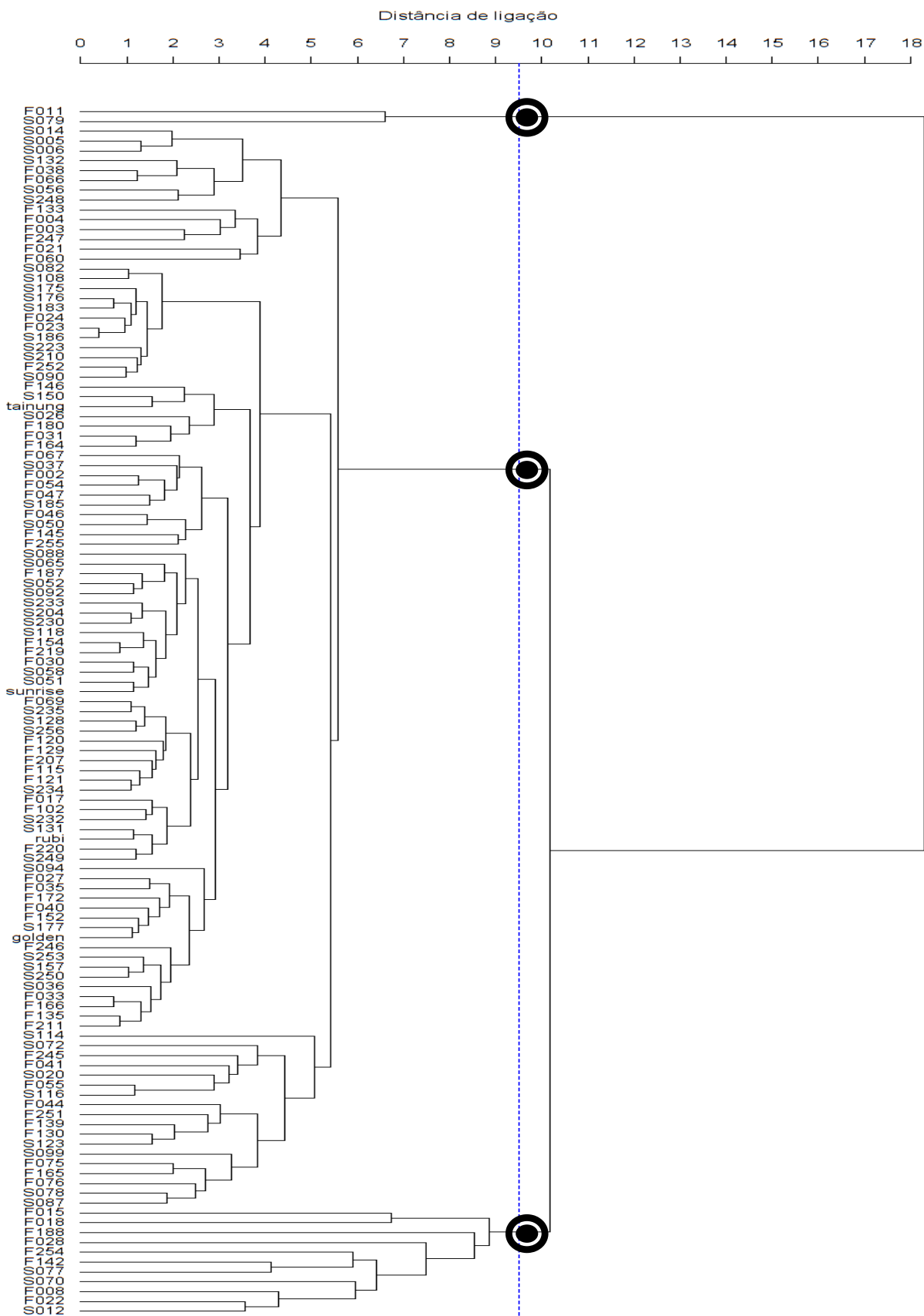
Dentre os grupos existentes, um grupo em especial, se destaca por ser composto apenas pelos acessos CMF 011 e CMF 079 indicando uma produção de flores semelhante entre eles: mínimo 6 e máximo de 7 flores, no entanto, com produção diferente dos demais grupos /acessos. Além disso, há um segundo grupo onde consta a maioria dos acessos avaliados do BAG com uma média de 0 a 5 flores produzidas pelos acessos quase que em sua totalidade (87,7%), ficando portanto, o último grupo formado pelos acessos CMF (008, 012, 015, 018, 022, 028, 070, 077, 142,188, 254) que apresentaram produção mais elevada de flores, de no mínimo 4 e máximo de 9 flores abertas por semana, a depender do acesso, em comparação aos demais grupos (Figura 7).

Essa análise nos informa em relação ao número de flores produzidas, mas não permite ver o comportamento dos acessos ao longo do ano e por isso é complementar ao que foi discutido anteriormente com base no *boxplot*.

Assim, esse tipo de estudo permite identificar, tanto acessos coincidentes, como assíncronos no florescimento, e a partir disso, planejar melhor as hibridações de interesse ou buscar estratégias que possam minimizar possíveis problemas no caso da assincronia entre acessos. Uma estratégia interessante que vem sendo utilizada afim de contornar esses problemas é a técnica de criopreservação de pólen, que já vem sendo usada em outros cultivos agrícolas de expressão econômica.

Outro aspecto que precisa ser observado, é o fato de que acessos que podem não apresentar características de interesse atualmente, podem ser potenciais candidatos no futuro em vista, não apenas das mudanças climáticas, mas da possibilidade de novos estudos buscando novos usos para esse germoplasma. Por isso essas informações em uma amplitude tão grande de materiais tem relevância e é o primeiro relato desse tipo de estudo para um número tão elevado de acessos de *Carica spp.*

Acessos



● Ponto de formação dos grupos

Figura 7. Análise de agrupamento entre os diferentes acessos de mamoeiro pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura – BA.

CONCLUSÃO

- O florescimento entre os acessos avaliados sofre influência do meio ambiente, principalmente da pluviosidade ao longo das estações do ano, caracterizando um comportamento sazonal;
- O inverno, mais precisamente nos meses de junho e julho, é a estação do ano em que a maioria dos acessos apresenta maior produção de flores;
- As testemunhas seguem fenologia de floração semelhante aos acessos do grupo ‘Solo’ e ‘Formosa’, mesmo que em produções mais baixas;
- Estudos sobre germinação e viabilidade do pólen dos acessos avaliados devem ser conduzidos a fim de conhecer a capacidade que estas plantas tem em gerar frutos e sementes ou serem posteriormente recomendados em programas de melhoramento genético.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BATISTA, A. A.; DUTRA, I.; CARMO, F. F.; IZIDIO, N. S. C.; BATISTA, R. O. Quality in papaya fruit produced with treated domestic sewage. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 1, p. 70-80, 2017.

CHARRAD, M.; GHAZZALI, N.; BOITEAU, V.; NIKNAFS, A. (2013) NbClust: **An examination of indices for determining the number of clusters. R package version 1.4.** Disponível em: <<http://cran.r-project.org/web/packages/NbClust/index.html>>

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** 2 ed. rev. Viçosa: UFV, 2001. 390p.

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

EMBRAPA (2009). **A cultura do mamão**. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/256911/1/PLANTA_RMamuoed032009.pdf>. Acesso em: 2 Junho de 2017.

GARRETT, A. The Pollination Biology of Papaw (*Carica papaya* L.) in Central Queensland. **Ph.D. thesis**, Department of Biology, Central Queensland University, Rockhampton, Queensland, Australia, 1995.

GASCHO, G. J.; SHIH, S. F. Sugarcane. In: TEARE, I. D.; PEET, M. M. (Ed.). **Crop-water relations**. New York: Wiley-Interscience, 1983. p. 445-479.

GEPTS, P. Plant genetic resources conservation and utilization: the accomplishments and future of a societal insurance policy. **Crop Science**, Madison, v. 46, n. 5, p. 2278-2296, 2006.

HEDHLY, A., HORMAZA, J.I., HERRERO, M. Global warming and plant sexual reproduction. **Trends in Plant Science**, v.14, p.30-36, 2008.

HERRERO, M. Male and female synchrony and the regulation of mating in flowering plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, v. 358, p.1019-1024, 2003.

IBGE. (2018). **Produto das lavouras temporárias e permanentes**. Tabela5457. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457#resultado>> Acesso em: 10 de maio de 2017.

IDE, C. D.; PEREIRA, M. G.; VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S. Use of testers for combining ability and selection of papaya hybrids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 9, n.1, p.60-66, 2009.

JANZEN, D.H. 1967. Synchronization of sexual reproduction of trees within the dry season in central América. **Evolution**, v. 21, p. 620-637.

MANTEL, N. **The detection of disease clustering and generalized regression approach.** *Cancer Research*, Birmingham, v.27, n.2, p.209-220, 1967.

MARENCO, J. A. **Mudanças climáticas globais e seus efeitos sobre a biodiversidade** - caracterização do clima atual e definição das alterações climáticas para o território brasileiro ao longo do século XXI. 2. ed. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, v.1, p.214, 2007.

MINGOTI, S.A. Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2005. 297 p.

NAVA, G.A.; DALMAGO, G.A.; BERGAMASCHI, H.; PANIZ, R.; SANTOS, R.P.; MARODIN, G.A.B. Effect of high temperatures in the pre-blooming and blooming periods on ovule formation, pollen grains and yield of 'Granada' peach. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.122, p.37-44, 2009.

NEWSTROM, L.E., FRANKIE, G.W. & BAKER, H.G. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in Lowlands tropical rain forest trees at La Selva. **Biotropica**, Costa Rica, v.26, p.141-159, 1994.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2018. Disponível em: URL <<https://www.R-project.org/>>.

RUGGIERO, C.; MARIN, S.L.D.; DURIGAN, J.F. Mamão, uma história de sucesso. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n.especial, p. 76-82, 2011.

SNEATH, P.H.; SOKAL, R.R. **Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification.** San Francisco: W.H. Freeman, 1973.

SOARES, T. L.; SOUZA, E. H.; ROSSI, M. L.; SOUZA, F. V. D. Morphology and viability of pollen grains. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 10, out, 2011.

SOKAL, R. R. and ROHLF, F. J. **The comparison of dendrograms by objective methods.** *Taxon*, v.11 p.33-40. 1962.

TEIXEIRA DA SILVA J. A.; RASHID, Z.; NHUT, D. T.; SIVAKUMAR, D.; GERA, A.; JRMT, S.; TENNANT, P. F. 2007 Papaya (*Carica papaya* L.) biology and biotechnology. **Tree and forestry Science and Biotechnology**, v.1, p. 47–73.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente dissertação buscou estudar os aspectos da biologia floral e reprodutiva da espécie *Carica papaya* L. e a fenologia de florescimento em diferentes acessos de mamoeiro pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa- BA a fim de subsidiar futuras estratégias para cruzamentos /hibridações em programas de melhoramento genético e até mesmo estratégias de conservação de pólen.

Os estudos referentes ao comportamento dos grãos de pólen, por meio da avaliação da morfologia e viabilidade podem contribuir no acréscimo de informações sobre a botânica da espécie, assim como no desenvolvimento de novos trabalhos envolvendo a conservação, interferindo dessa forma, na manutenção dos recursos genéticos vegetais existentes.

O conhecimento a cerca da morfologia e receptividade do estigma em flores hermafroditas de *Carica papaya* L. poderá ainda contribuir na caracterização do tipo de fruto a ser formado, além de fornecer de maneira rápida por meio de testes de receptividade, informações sobre a capacidade que as plantas possuem no sucesso reprodutivo.

Além disso, os estudos sobre a fenologia do florescimento da cultura podem indicar qual época se torna mais propícia e adequada para a realização de futuros cruzamentos, e também no planejamento e desenvolvimento de novas estratégias de conservação.

Como ações futuras e de continuidade deste trabalho, fica a proposta de se avaliar, com base nos resultados obtidos, de forma mais dirigida, a viabilidade polínica destes acessos na condição em que apresentam a maior produção de flores.

ANEXOS

ANEXO 2

a) Anava para número de grão de pólen *Carica papaya* L..

	GL	SQ	QM
Tratamento	9	0.24878	0.027642
Residuo	19	0.62012	0.032638
Total	28	0.86890	

CV = 3.17 %

b) Anava para os testes de viabilidade polínica

FV	GL	SQ	QM
MET	2	7.480639	3.740319
FASE	2	0.658029	0.329015
ACESS	9	1.163019	0.129224
MET*FASE	4	0.978416	0.244604
MET*ACESS	18	1.824288	0.101349
FASE*ACESS	18	0.992592	0.055144
MET*FASE*ACESS	36	0.818405	0.022733
erro	174	1.824500	0.010486
Total corrigido	263	15.739887	

CV (%) = 11.49

c) Anava para as reações de receptividade

FV	GL	SQ	QM
MET	1	0.708134	0.708134
FASE	2	16.247804	8.123902
ACESS	10	1.317416	0.131742
MET*FASE	2	1.591738	0.795869
MET*ACESS	10	0.969205	0.096921
FASE*ACESS	20	2.798862	0.139943
MET*FASE*ACESS	20	2.229173	0.111459
erro	114	4.922100	0.043176
Total corrigido	179	30.784433	

CV (%) = 14.81