

Diversidade genética em duas espécies de Caricáceas e suas relações genéticas com *Carica papaya* L.¹

Genetic diversity in two species of Caricaceae and their genetic relationship to *Carica papaya* L.

Pedro Corrêa Damasceno Junior^{2*}, Telma Nair Santana Pereira³, Francisco Filho da Silva⁴, Marcus Vinicius Magro Reis² e Messias Gonzaga Pereira³

RESUMO - As espécies *Vasconcellea monoica* e *Jacaratia spinosa* são germoplasmas silvestres pertencentes à família Caricaceae e são úteis em programas de melhoramento da espécie cultivada *Carica papaya*. O objetivo no presente trabalho foi estudar as relações genéticas entre as três espécies, e conhecer a diversidade genética dentro das espécies silvestres, via marcadores RAPD. Os acessos pertencentes à Coleção de Germoplasmas de Caricáceas do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal da UENF foram coletados em dois diferentes Estados da Federação, Rio de Janeiro e Espírito Santo, e genotipados, utilizando-se marcadores RAPD. Os resultados indicaram que as espécies silvestres apresentaram-se relativamente distantes geneticamente da espécie cultivada, e também muito distantes entre si. Tal fato pode sugerir que haja muita dificuldade na obtenção de híbridos interespecíficos entre tais espécies. As estimativas de diversidade aqui obtidas indicaram que a espécie *J. spinosa* foi superior à da espécie *V. monoica*. Os resultados obtidos demonstraram baixa variabilidade genética entre os acessos por espécie aqui analisados, indicando que é imprescindível a inserção de novos materiais genéticos na Coleção de Germoplasma de Caricáceas da UENF.

Palavras-chave: *Vasconcellea monoica*. *Jacaratia spinosa*. Marcadores RAPD. Germoplasmas. Melhoramento genético.

ABSTRACT - The species *Vasconcellea monoecious* and *Jacaratia spinosa* are wild germplasm belonging to the *Caricaceae* family, and are useful in breeding programs of the cultivated species, *Carica papaya*. The aim of this work was to study the genetic relationships between the three species, and understand the genetic diversity within wild species, using RAPD markers. Accesses belonging to the Caricaceae Germplasm Collection of the Plant Breeding Laboratory of the North Fluminense Federal University (UENF) were collected in two different states of Brazil, Rio de Janeiro and Espírito Santo, and genotyped using molecular markers. The results indicated that the wild species were genetically relatively distant from the cultivated species, and also very distant from each other. This suggests that there may be great difficulty in obtaining interspecific hybrids between these species. The estimates of diversity obtained here demonstrated that the species *J. spinosa* was superior to *V. monoecious*. The results showed low genetic variability among the accessions for each species analysed, indicating that insertion of new genetic material into the Caricaceae Germplasm Collection of UENF is essential.

Key words: *Vasconcellea monoica*. *Jacaratia spinosa*. RAPD markers. Germplasm. Genetic improvement.

DOI: 10.5935/1806-6690.20150060

*Autor para correspondência

¹Recebido para publicação em 08/05/2013; aprovado em 02/04/2015

Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro/UENF

²Departamento de Fitotecnia/Instituto de Agronomia/Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro/UFRRJ, Seropédica-RJ, Brasil, 23.890-000, damascenjunior2009@gmail.com, marcus.ufrj@gmail.com

³Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal/Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias/Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro/UENF, Campos dos Goytacazes-RJ, Brasil, 28.013-602, telmasp@uenf.br, messias@uenf.br

⁴Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins/IFTO, Campus Araguaatins, Araguaatins-TO, Brasil, 77.950-000, ffsilvato@gmail.com

INTRODUÇÃO

A família Caricaceae compreende 6 gêneros (BADILLO, 2000), quais sejam, *Cylicomorpha*, representado por espécies originárias da África Equatorial, *Jarilla* e *Horovitzia*, com espécies restritas à América Central, e *Jacaratia*, *Vasconcellea* e *Carica*, com espécies predominantes da América do Sul e América Central. O gênero *Carica* corresponde apenas à espécie cultivada, *C. papaya* (BADILLO, 2000). A importância econômica da família Caricaceae reside grandemente na produção de frutos por parte de sua principal espécie, *C. papaya*, amplamente cultivada na região dos trópicos.

Um dos principais problemas no cultivo comercial do mamoeiro (*Carica papaya* L.) é a incidência de uma doença denominada mosaico do mamoeiro, causado pelo vírus *Papaya Ringspot Virus* (PRSV).

Outro fator complicador na cultura do mamoeiro é a reduzida resistência de poupa, aliada a problemas relacionados à textura de casca do fruto, na maioria das cultivares de importância comercial. Dessa forma, a utilização de espécies silvestres no melhoramento do mamoeiro se faz altamente importante, visando à ampliação da base genética da espécie cultivada (*C. papaya*), sendo esta conhecidamente estreita. As espécies *Vasconcellea monoica* e *Jacaratia spinosa* produzem frutos com textura lisa de casca e uma conhecida resistência ao PRSV, respectivamente.

Os germoplasmas silvestres constituem uma importante fonte de genes para o melhoramento vegetal, porém, a incorporação destes em programas de melhoramento vegetal envolve um longo tempo de trabalho e decisões acertadas quanto à estratégia de melhoramento a ser utilizada (HOLLAND, 2004). A transferência de genes de espécies silvestres e/ou gêneros relacionados para espécies cultivadas, via hibridação, é de grande interesse para a combinação do potencial genético das espécies, além de possibilitar a introgressão de novos genes de interesse em variedades cultivadas. Entretanto, para que a hibridação interespecífica e/ou intergenérica seja bem sucedida, é necessário conhecer as relações genéticas entre as diferentes espécies que serão utilizadas no programa de melhoramento.

As espécies *Carica papaya*, *Vasconcellea monoica* e *Jacaratia spinosa* são diplóides e possuem 18 cromossomos cada uma delas (DAMASCENO JUNIOR *et al.*, 2009a; DAMASCENO JUNIOR *et al.*, 2010). Para acessar as relações genéticas intergenéricas e interespecíficas, entre *C. papaya*, *V. monoica* e *J. spinosa*, os marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) podem ser seguramente utilizados, pois além de cobrir todo o genoma (SAXENA *et al.*, 2005), se aplicam bem a espécies ainda com altos níveis de heterozigose, como no caso dos genótipos silvestres destas espécies. Silva *et al.* (2007) empregaram com sucesso os marcadores RAPD para monitorar o avanço

de gerações de autofecundação no progenitor Formosa do híbrido Uenf/Caliman 01. Ramos *et al.* (2012) utilizaram marcadores RAPD e ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) a fim de auxiliar na identificação de genótipos superiores retrocruzados. Vale dizer que outras classes de marcadores moleculares também vêm sendo utilizadas no estudo filogenético entre espécies de Caricaceae e entre genótipos de *C. papaya*, como por exemplo, AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) (KIM *et al.*, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2011), microssatélites (SSR - *Simple Sequence Repeat*) (EUSTICE *et al.*, 2008; OCAMPO PÉREZ *et al.*, 2006), RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) (ARADHYA *et al.*, 1999) e ISSR (COSTA *et al.*, 2011).

No presente trabalho, objetivou-se conhecer a diversidade genética intraespecífica dos acessos referentes às espécies *Jacaratia spinosa* e *Vasconcellea monoica*, pertencentes à Coleção de Germoplasma de Caricáceas da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, e suas relações genéticas com a espécie *Carica papaya*.

MATERIAL E MÉTODOS

Local das análises e material vegetal

O germoplasma utilizado no presente estudo é pertencente à Coleção de Germoplasma de Caricáceas do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal, localizado no Centro de Ciências Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, em Campos dos Goytacazes, RJ.

Foram utilizados nas análises 21 acessos de *Vasconcellea monoica*, 16 de *Jacaratia spinosa* e 8 da espécie cultivada, *Carica papaya*.

Metodologia de coleta, extração e quantificação do DNA genômico

Folhas jovens foram envolvidas em papel alumínio, colocadas em caixas de isopor contendo gelo em gel e levadas imediatamente para o Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, para extração do DNA genômico. Foram maceradas cerca de 250 mg de tecido vegetal e, em seguida, o pó gelado foi transferido imediatamente para tubos *ependorf* de 1,5 ml, que foram depositados em nitrogênio líquido. A seguir, as amostras foram identificadas e armazenadas em ultrafreezer -72 °C até o início da extração do DNA.

O DNA genômico foi extraído, utilizando-se, com algumas modificações, o método CTAB (*cetyltrimethylammonium bromide*), descrito por Doyle e Doyle (1987). Aos tubos *ependorf*, contendo as amostras,

adicionou-se tampão de extração. Os tubos foram incubados em banho-maria a 65 °C por 40 minutos. Em seguida, após resfriados à temperatura ambiente, os tubos foram centrifugados por aproximadamente 5 minutos a 14.000 rpm. Na sequência, o sobrenadante foi transferido para novos tubos, onde foram adicionados 800 µl de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1). Após nova centrifugação, a solução aquosa foi transferida para um novo tubo, onde se adicionou clorofórmio-álcool isoamílico (24:1) e, novamente, submetida à centrifugação. A fase aquosa foi novamente transferida para um novo tubo, onde se adicionou 2/3 do volume de isopropanol gelado. Após novamente incubada, a -20 °C por 2,5 h a solução foi centrifugada por 10 minutos a 14.000 rpm. Depois de removido o sobrenadante, o precipitado foi lavado duas vezes em etanol 70%, uma vez em etanol 95%, e secado em temperatura ambiente.

O precipitado seco foi ressuscitado em 200 µl de TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8,0), contendo *RNAse* na concentração final de 40 µg/ml. A solução foi incubada em banho-maria a 37 °C por 30 minutos. Em seguida, foram adicionados NaCl a 5 M, na proporção de 1:10 (NaCl : DNA ressuscitado). Na sequência, adicionou-se 2/3 do volume de isopropanol gelado. Os tubos com a solução foram incubados em geladeira, a uma temperatura de 4 °C, durante, aproximadamente, quatro horas. O precipitado foi novamente lavado em etanol 70 e 90% e seco em temperatura ambiente. Em seguida, o precipitado final de cada amostra foi ressuscitado em 200 µl de TE e armazenado em microtubos *eppendorf* (1,5 ml), acondicionados em *freezer*.

Quantificação do DNA genômico

As concentrações de DNA nas amostras foram estimadas por meio de análise digital de imagens, utilizando-se o programa GelQuant.

Reação de Polimerase em Cadeia (PCR)

As reações de amplificação foram realizadas conforme Williams *et al.* (1990), modificadas, em volume final de 25 µl, contendo reagentes nas seguintes concentrações: 10 mmol L⁻¹ Tris-HCl, pH 8,3; 50 mmol L⁻¹ KCl; 2,4 mmol L⁻¹ MgCl₂; 100 µM dATP, dCTP e dTTP; 0,3 µM de *primer*; 20 ng de DNA genômico e uma unidade de Taq DNA polimerase (*Pharmacia Biotech*, EUA). Foi utilizado um termociclador *PCR System 9.700*, programado para 95 °C por 1 minuto, seguido de 45 ciclos de 1 minuto a 94 °C, 1 minuto a 36 °C e 2 minutos a 72 °C, e um passo final para extensão de 7 minutos a 72 °C, utilizando o modo de transição de temperatura mais rápida disponível (1 °C s⁻¹).

Com base em resultados anteriores (VITÓRIA *et al.*, 2004) e triagem de *primers*, foram selecionados 15 *primers*: OPO15, OPO10, OPAH18, OPAI03, OPAG11, OPAH14, OPD20, OPS12, OPB02, OPF12, OPG10, OPN09, OPE06, OPAA17 e OPAB11.

Fotodocumentação

Os produtos amplificados (bandas) foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1,2% e visualizados após coloração com brometo de etídio. Os perfis RAPD de cada espécie foram obtidos pela presença ou ausência de bandas de alta intensidade. Toda a fotodocumentação dos géis foi realizada utilizando-se o equipamento MiniBis Pro e as imagens dos géis foram capturadas no programa GelCapture.

Análises estatísticas e de diversidade

Todos os géis obtidos foram avaliados manualmente, e as bandas polimórficas foram caracterizadas como presença (valor 1) ou ausência (valor 0). Bandas não polimórficas receberam sempre o valor 1. Somente as bandas com alta fluorescência foram consideradas.

As análises estatísticas foram conduzidas no Programa R, versão 1.7.1 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011). A dissimilaridade entre os acessos foi estimada a partir do coeficiente de Nei e Li. A análise de agrupamento foi realizada utilizando-se a metodologia das médias aritméticas (UPGMA - *Unweighted pair-group method using an arithmetic average*). Utilizou-se a técnica proposta por Kelley, Gardner e Sutcliffe (1996) para se estimar o número de grupos ótimos (Kelley-Gardner-Sutcliffe penalty function) no dendrograma. Para as análises de consistência dos agrupamentos foram conhecidas as estimativas de “stress”, distorção e correlação cofenética entre a matriz fenética e cofenética.

As similaridades inter e intraespécie também foram estimadas via algoritmo ANOSIM (Análise de Similaridade). A ANOSIM, proposta por Clarke e Green (1988), refere-se a um método estatístico não paramétrico que possibilita a comparação de diferentes populações. Segundo estes autores, tal análise permite discriminar grupos cuja similaridade entre as suas repetições (dentro) são maiores que as encontradas entre repetições de grupos distintos (entre). Tais estimativas são apresentadas em estruturas denominadas “boxplots”, onde sua largura é proporcional à raiz quadrada do número de observações nos grupos. O teste ANOSIM promove uma estatística *R* definida para o intervalo entre -1 e +1. Nesta estatística, valores próximos a zero indicam a aceitação da hipótese nula (H₀), isto é, de que não há diferenças significativas entre os grupos, enquanto que valores próximos a +1 e -1 sugerem, respectivamente, maior diferença entre e dentro dos grupos. A estatística *R* (CLARKE; GREEN, 1988) é dada por:

$$R = \frac{\bar{r}_B - \bar{r}_w}{n(n-1)/4} \text{ onde,}$$

\bar{r}_B e \bar{r}_w são as médias das similaridades entre e dentro dos grupos, respectivamente, e *n* corresponde ao número total de observações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes às estimativas de distorção, “stress” e correlação cofenética foram, respectivamente, de 0,11, 0,0 e 0,97, sendo este último significativo a 1,0% pelo Teste de Mantel. Estes parâmetros indicaram uma reduzida distorção dos valores entre a matriz fenética e cofenética.

Com base nos resultados obtidos (Figuras 1 e 2), nota-se grande diversidade genética entre as espécies de Caricaceae estudadas. Com a utilização de 15 *primers*, foram amplificados 136 fragmentos RAPD; destes, apenas seis foram monomórficos entre as três espécies, correspondendo a um percentual de 4,41% do total de fragmentos amplificados.

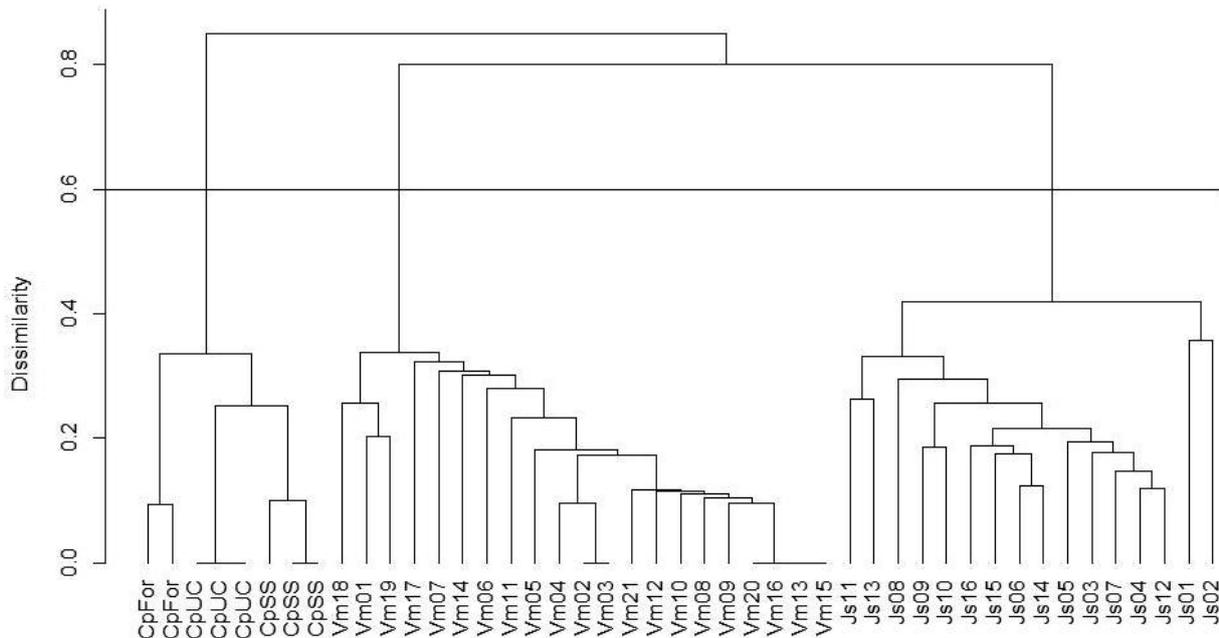
Com a utilização do algoritmo proposto por Kelley-Gardner-Sutcliffe (KELLEY; GARDNER; SUTCLIFFE, 1996), foi possível conhecer o ponto de corte ótimo no dendrograma, o qual indicou a formação de apenas 3 grupos, como esperado, correspondendo a dissimilaridade entre espécies.

O grupo formado por *J. spinosa* e *V. monoica* compartilhou uma similaridade de apenas 0,15 com *C. papaya*. Conforme apresentado na Tabela 1 e na Figura 1, observa-se que a espécie *J. spinosa* apresentou-se ligeiramente mais similar com *V. monoica* do que com *C. papaya*, sendo 13,24% das marcas totais em comum, e esta última

espécie foi mais próxima geneticamente de *J. spinosa* do que com *V. monoica*, apresentando 11,76% do total de marcas em comum. De uma forma geral, as espécies foram muito distantes geneticamente. Kyndt *et al.* (2005), trabalhando com 6 espécies do gênero *Vasconcellea*, concluíram que caracteres vegetativos avaliados nestas espécies não mostraram relação direta com aspectos genotípicos e taxonômicos.

De acordo com Kim *et al.* (2002), a espécie *C. papaya* compartilhou o mínimo de similaridade genética (0,432) com outras seis espécies da família Caricaceae, são elas: *V. goudatiana*, *V. horovitziana*, *V. stipulata*, *V. parviflora*, *V. cundinamarcensis* e *V. monoica*, e a similaridade entre estas espécies foi de 0,729. Com base em tais resultados, Kim *et al.* (2002) concluíram que a espécie *C. papaya* divergiu do restante das espécies de *Vasconcellea* em estádios precoces da evolução do gênero. Costa *et al.* (2011), trabalhando com as espécies *C. papaya*, *J. spinosa*, *V. monoica* e *V. quercifolia*, utilizando marcadores ISSR, encontraram um alto número de bandas polimórficas e, constataram que *C. papaya* formou um grupo distinto das demais espécies. Aradhya *et al.* (1999), trabalhando com RFLP, em regiões intergênicas de *cpDNA*, concluíram que as espécies de *Vasconcellea spp.* compartilharam maior similaridade com *Jacaratia* do que com *C. papaya*, assim sendo, tal similaridade entre *Vasconcellea spp.* e *Jacaratia*, ratifica

Figura 1 - Dendrograma representando a diversidade genética obtida via método de agrupamento UPGMA, utilizando-se a similaridade de Nei e Li, entre e dentro de acessos de *Jacaratia spinosa*, *Vasconcellea monoica* e *Carica papaya*, pertencentes à Coleção de Germoplasma de Caricáceas do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF)



Cpfor = *Carica papaya* cv. JS12; CpUC = *Carica papaya* cv. UC; CpSS = *Carica papaya* cv. SS72/12; Vm = *Vasconcellea monoica*; Js = *Jacaratia spinosa*

a hipótese de que a espécie *C. papaya* tenha divergido mais cedo do que todas as demais espécies da família Caricaceae.

Portanto, os resultados relacionados à divergência genética entre as espécies estudadas no presente

trabalho estão de acordo com os resultados encontrados na literatura disponível para a família Caricaceae. Conforme Saxena *et al.* (2005), o método RAPD, apesar de apresentar uma baixa estringência e problemas quanto

Figura 2 - “Boxplots” representando a diversidade genética obtida via algoritmo ANOSIM, utilizando-se a similaridade de Nei e Li e o método UPGMA, entre e dentro de acessos de *Carica papaya*, *Jacaratia spinosa* e *Vasconcellea monoica*, pertencentes à Coleção de Germoplasma de Caricáceas do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF)

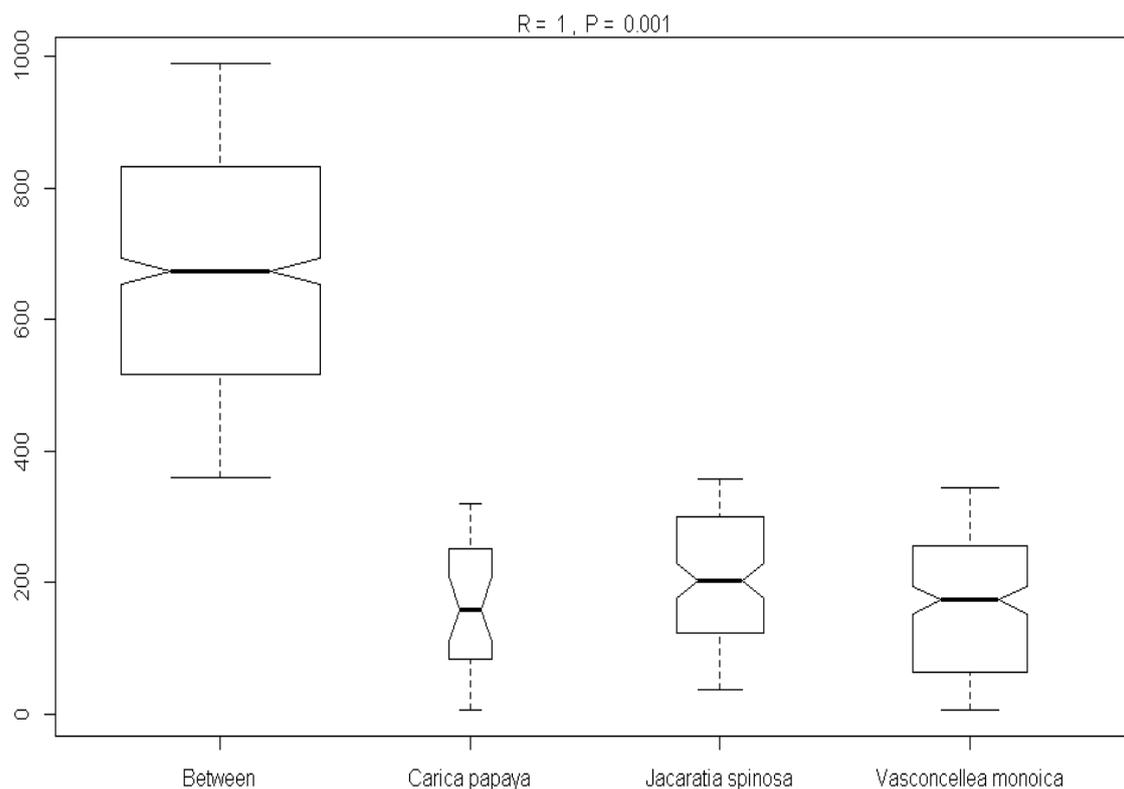


Tabela 1 - Número total e porcentagem de marcas RAPD presentes dentro e entre as espécies *Jacaratia spinosa*, *Vasconcellea monoica* e *Carica papaya*, utilizando-se acessos pertencentes à Coleção de Germoplasma de Caricáceas do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Espécies	Nº de marcas	Nº de marcas (%)
<i>C. papaya</i>	29	21,32
<i>V. monoica</i>	18	13,24
<i>J. spinosa</i>	35	25,74
<i>C. papaya</i> / <i>V. monoica</i>	14	10,29
<i>C. papaya</i> / <i>J. spinosa</i>	16	11,76
<i>V. monoica</i> / <i>J. spinosa</i>	18	13,24
<i>C. papaya</i> / <i>V. monoica</i> / <i>J. spinosa</i>	*6	*4,41
Total de marcas	136	100

*Bandas monomórficas.

a sua reprodutibilidade, é uma técnica que tem sido amplamente aplicada a um grande número de espécies vegetais, com o objetivo de se estudar a divergência genética. Como já mencionado anteriormente, no presente caso, os resultados obtidos com os marcadores RAPD apresentaram alta correlação com os resultados descritos na literatura. Apenas os resultados relatados por Van Droogenbroeck *et al.* (2004), trabalhando com variação a partir de DNA mitocondrial, consideraram apenas dois grupos dentro da família Caricaceae; o primeiro compreendendo somente espécies de *Vasconcellea*, e o segundo, algumas espécies do gênero *Vasconcellea*, juntamente com genótipos de *Carica*, *Cylicomorpha* e *Jacaratia*.

Quanto à diversidade intraespecífica, com base na Figura 1, pode-se inferir que há maior diversidade genotípica dentro da espécie *J. spinosa*, constatado pela formação de grupos internos com bifurcações mais altas e definidas.

Uma maneira alternativa de se estimar a variabilidade genética intraespecífica pode ser dada através da análise de similaridade utilizando o algoritmo ANOSIM (CLARKE; GREEN, 1988). De acordo com estes autores, a ANOSIM é fundamentada nos princípios de permutação e aleatorização que atuam sobre uma matriz de similaridade/dissimilaridade, demonstrando o quanto cada observação é similar, ou dissimilar, dada a estrutura de comunidade e a medida de distância escolhida. A Figura 2 apresenta 4 “boxplots” estimados a partir do algoritmo ANOSIM, no Programa R.

Ao contrário da função ANOSIM, estimativas de diversidade obtidas através do índice de Shannon-Weaver podem ter sua eficiência reduzida, caso as amostras utilizadas sejam de tamanho pequeno. Os resultados mostrados na Figura 2 corroboram com os resultados referentes à diversidade genotípica acima mencionada. Pela análise de similaridade via algoritmo ANOSIM, as diversidades encontradas para *J. spinosa*, *V. monoica* e *C. papaya* foram estatisticamente distintas ($R = 1,0$; significância = 0,001). Nesta figura, observa-se que a maior diversidade é encontrada entre as espécies, e muito menos dentro das espécies. A espécie *J. spinosa* possui uma diversidade média superior a das demais estudadas. Por se tratar de uma espécie dióica, estimativas superiores de diversidade já poderiam ser esperadas. A diversidade observada em *V. monoica* é muito próxima da encontrada em *C. papaya*, porém, a primeira apresenta uma leve superioridade em relação à espécie cultivada.

Os resultados mencionados anteriormente podem estar correlacionados com o modo de reprodução de cada espécie estudada. As espécies *J. spinosa* e *V. monoica* são, respectivamente, uma espécie dióica e monóica, enquanto que *C. papaya*, uma espécie com formas sexuais dióica e hermafrodita, porém, todos os genótipos utilizados no presente trabalho foram tipos hermafroditas.

Apesar de não ser o objetivo do trabalho, não se pode deixar de mencionar a diversidade encontrada entre os acessos da espécie cultivada. Na Figura 1, *C. papaya* apresentou polimorfismo entre as três cultivares analisadas e também dentro de *Sunrise Solo* (SS) e dentro de Formosa houve polimorfismo, sendo que, pelo fato destas duas cultivares se tratarem de linhas puras, tal resultado não seria esperado. Em relação à cultivar UC, o polimorfismo foi zero, resultado este esperado por se tratar de um híbrido F_1 . Tal fato pode indicar que os alelos presentes nas linhagens parentais do híbrido ainda não se encontram totalmente fixados. Oliveira *et al.* (2011), estudando a diversidade genética via AFLP em genótipos de *Carica papaya*, observaram que a cultivar Sunrise foi mais próxima genotipicamente de uma linhagem endogâmica estudada (CMF-L30-08), quando comparado com genótipos *landraces* (CMF 233) na mesma espécie.

De posse dos resultados apresentados no dendrograma (Figura 1), pode-se inferir que as espécies em estudo possuem uma reduzida base genética. Tal fato é observado quando se realiza a leitura do eixo vertical no dendrograma, sendo a maior distância alcançada (bifurcação mais alta) intraespécie de 0,42 em *J. spinosa*. Assim sendo, os resultados aqui obtidos apontam para a necessidade de inserção de novos acessos de *Jacaratia spinosa* e *Vasconcellea monoica* na Coleção de Germoplasma de Caricáceas do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal da UENF. Essa inserção visa, por exemplo, ampliar a diversidade intraespecífica, resultando em maiores chances de se localizar, na Coleção, genótipos de *V. monoica* com textura lisa de casca e genótipos de *J. spinosa* resistentes ao vírus *Papaya Ringspot Virus* (PRSV). Trabalhos realizados por Kim *et al.* (2002), utilizando marcadores AFLP, sugeriram limitada variação genética dentro da espécie *C. papaya*; com uma média de 0,880 de similaridade entre 63 acessos da espécie citada. De acordo com Eustice *et al.* (2008), os marcadores microssatélites se constituem em uma importante ferramenta quando se deseja obter bandas polimórficas em genótipos proximamente relacionados, como é o caso das cultivares de *C. papaya*. Estes mesmos autores, trabalhando com microssatélites produzidos a partir de BAC's e sequências complementares, encontraram níveis altos de polimorfismo para a maioria dos acessos de mamoeiro estudados. Porém, conforme Kyndt *et al.* (2006), os marcadores microssatélites utilizados para acessar a diversidade genética entre acessos de *Vasconcellea*, *Jacaratia* e *Carica* não foram suficientemente seguros na distinção entre espécies.

CONCLUSÕES

1. Com base nos resultados apresentados, pode-se concluir que as espécies *Jacaratia spinosa* e *Vasconcellea monoica* apresentam menor distância genética entre

si do que com a espécie cultivada *Carica papaya*. As distâncias genéticas entre as espécies aqui estudadas apresentaram-se relativamente altas, ou seja, tais espécies podem estar relacionadas a diferentes complexos gênicos;

2. As estimativas de diversidade genética foram maiores, respectivamente, para as espécies *Jacaratia spinosa*, *Vasconcellea monoica* e *Carica papaya*. Porém, todas as estimativas obtidas apresentaram-se muito baixas, sugerindo uma base genética estreita para as espécies em questão.

AGRADECIMENTOS

À FINEP, FAPERJ, Empresa Caliman Agrícola S.A. e ao Instituto Estadual de Florestas do Estado do Rio de Janeiro.

REFERÊNCIAS

- ARADHYA, M. K. et al. 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**, v. 46, p. 579-586, 1999.
- BADILLO, V. M. *Carica* L. vs. *Vasconcellea* St. Hil. (Caricaceae): con la rehabilitación de este último. **Ernstia**, v. 10, p. 74-79, 2000.
- CLARKE, K. R.; GREEN, R. H. Statistical design and analysis for a 'biological effects' study. **Marine Ecology Progress Series**, v. 92, p. 213-226, 1988.
- COSTA, F. R. da et al. ISSR markers for genetic relationships in Caricaceae and sex differentiation in papaya. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 11, p. 352-357, 2011.
- DAMASCENO JUNIOR, P. C. et al. Karyotype determination in three Caricaceae species emphasizing the cultivated form (*Carica papaya* L.). **Caryologia**, v. 62, p. 10-15, 2009a.
- DAMASCENO JUNIOR, P. C. et al. Meiotic behavior of *Carica papaya* and *Vasconcellea monoica*. **Caryologia**, v. 63, p. 229-236, 2010.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, p. 13-15, 1987.
- EUSTICE, M. et al. Development and application of microsatellite markers for genomic analysis of papaya. **Tree Genetics & Genomes**, v. 4, p. 333-341, 2008.
- HOLLAND, J. B. Breeding: Incorporation of exotic germplasm. In: GOODMAN, R. M. **Encyclopedia of Plant and Crop Science**. New Jersey, USA: CRC Press, 2004. p. 222-224.
- KELLEY, L. A.; GARDNER, S. P.; SUTCLIFFE, M. J. An automated approach for clustering an ensemble of NMR-derived protein structures into conformationally-related subfamilies. **Protein Engineering**, v. 9, p. 1063-1065, 1996.
- KIM, M. S. et al. Genetic diversity of *Carica papaya* as revealed by AFLP markers. **Genome**, v. 45, p. 503-512, 2002.
- KYNDT, T. et al. Species relationships in the genus *Vasconcellea* (Caricaceae) based on molecular and morphological evidence. **American Journal of Botany**, v. 92, n. 6, p. 1033-1044, 2005.
- KYNDT, T. et al. Cross-species microsatellite amplification in *Vasconcellea* and related genera and their use in germplasm classification. **Genome**, v. 49, n. 7, p. 786-98, 2006.
- OCAMPO PÉREZ, J. et al. Microsatellite markers in *Carica papaya* L.: isolation, characterization and transferability to *Vasconcellea* species. **Molecular Ecology Notes**, v. 6, p. 212-217, 2006.
- OLIVEIRA, E. J. de et al. Molecular characterization of papaya genotypes using AFLP markers. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 848-858, 2011.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2011. Disponível em: <<http://www.r-project.org/>>. Acesso em: 15 jan. 2013.
- RAMOS, H. C. C. et al. Multivariate analysis to determine the genetic distance among backcross papaya (*Carica papaya*) progenies. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, n. 2, p. 1280-1295, 2012.
- SAXENA, S. et al. Analysis of genetic diversity among papaya cultivars using Single Primer Amplification Reaction (SPAR) methods. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 80, p. 291-296, 2005.
- SILVA, F. F. et al. Monitoring of the genetic variability in papaya parent 'Formosa' of 'UENF/Caliman 01' hybrid via RAPD. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 7, p. 36-42, 2007.
- VAN DROOGENBROECK, B. et al. Phylogenetic analysis of the highland papayas (*Vasconcellea*) and allied genera (Caricaceae) using PCR-RFLP. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 108, p. 1473-1486, 2004.
- VITÓRIA, A. P. et al. DNA fingerprint of *Carica papaya* L. Genotypes by RAPD markers. **Journal of New Seeds**, v. 61, p. 51-65, 2004.
- WILLIAMS, J. G. K. et al. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, p. 6531-6535, 1990.