# ESTUDO DE CARACTERES MORFOLÓGICOS, AGRONÔMICOS E MOLECULARES EM CULTIVARES DO MORANGO

(Fragaria x ananassa Duch.)

# JOSÉ HENRIQUE CONTI

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. FLAVIO CESAR ALMEIDA TAVARES

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Agronomia, Área de Concentração: Genética e Melhoramento de Plantas.

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Dezembro - 1998

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Conti, José Henrique

Estudo de caracteres morfológicos, agronômicos e moleculares em cultivares do morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) / José Henrique Conti. - - Piracicaba, 1998. 154 p. : il.

Tese (doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1998. Bibliografia.

1. Genética molecular 2. Marcador molecular 2. Melhoramento genético vegetal 3. Morango 4. Morfologia vegetal I. Título

CDD 634.75

Aos meus Pais, Antonio e Odette

> Aos meus irmãos, Mauricio e Priscila

Ao Tio Zé

DEDICO.

#### **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Flavio Cesar Almeida Tavares, ESALQ/USP, pela orientação, apoio e incentivo.

Ao Prof. Dr. Keigo Minami, co-orientador, ESALQ/USP, pela iniciativa do trabalho e apoio técnico e estrutural.

Ao Prof. Dr. Francisco Antonio Passos, IAC, pelo apoio e ajuda desde o início da elaboração do trabalho.

Ao Biólogo Msc. Luiz Humberto Gomes pela amizade e ajuda na caracterização molecular.

Ao Engenheiro Agrônomo Msc. Juan Lucas Argueso pela amizade e ajuda na caracterização molecular.

Ao Pesquisador. Dr. Juarez Antonio Betti, IAC, pelo fornecimento dos cultivares, dicas de origem e apoio ao trabalho.

À Pesquisadora Dr. Sonia Dedeca S. Campos, ITAL, pelas análises tecnológicas e apoio ao trabalho.

À Pesquisadora Dr. Vera L. P. Ferreira, ITAL, pelas análises de cor dos frutos.

À Pesquisadora Dr. Raquel Benetti Queiroz Voltan, IAC, pelas dicas na caracterização morfológica.

À Engenheira Agrônoma Msc. Keila Maria Roncato Duarte pela amizade e dicas ao trabalho e ao projeto da FAPESP.

Aos colegas do Laboratório de Leveduras, Ana Maria Giacomelli, Jefferson Willians de Gaspari e Felipe Gabriel Andino pelo incentivo e ajuda.

Ao produtor rural Caludemir Rodrigues Spinassi pela ajuda no experimento de Atibaia.

Ao produtor de mudas Tadashi Harada pelo fornecimento das mudas dos experimentos de campo.

Aos trabalhadores de campo do Departamento de Horticultura, ESALQ/USP, Gelson e Gaudêncio e especialmente ao Nivaldo pela ajuda e amizade.

Aos colegas e professores do Departamento de Genética, ESALQ/USP.

Aos colegas do grupo PET Biotecnologia Agrícola, Max, Jí Pará, Irwing, Paeja, Escargot e a todos que passaram por este grupo o qual me orgulho de ter participado do primeiro.

Às instituições CAPES, CNPQ e FAPESP, processo 96/1606-2, pelo auxílio à pesquisa.

# SUMÁRIO

P	ágina
LISTA DE FIGURAS	х
LISTA DE TABELAS	XV
RESUMO.	XX
SUMMARY	xxii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Origem, evolução e citogenética.	5
2.2 Hibridação interespecífica	6
2.3 Melhoramento	7
2.3.1 Histórico no Brasil	9
2.3.2 O melhoramento em regiões de clima temperado (média latitude)	12
2.3.3 O melhoramento em outras regiões tropicais e subtropicais (baixa latitude)	13
2.3.4 Interação genótipo x ambiente	14
2.4 Variabilidade e caracterização de cultivares	15
2.4.1 Marcadores com base em proteínas	16
2.4.2 Marcadores com base no DNA	16
2.4.3 Marcadores moleculares em horticultura	. 20
2.4.4 Marcadores em morangos cultivados	22
2.5 Variações na tecnologia de produção comercial do morango	24
2.5.1 Micropropagação	24
2.5.2 Cultivares, coberturas de solo e da cultura e formas de irrigação	25
3 MATERIAIS E MÉTODOS	27
3.1 Materiais	27

Pá	igina
3.2 Métodos.	31
3.2.1 Características morfológicas	33
3.2.1.1 Forma dos dentes do folíolo	33
3.2.1.2 Cor da folha	34
3.2.1.3 Ângulo da base do folíolo	34
3.2.1.4 Razão entre o comprimento e a largura do folíolo	36
3.2.1.5 Posição da inflorescência em relação a folhagem	36
3.2.1.6 Tamanho do cálice em relação ao fruto	36
3.2.1.7 Cor de fruto imaturo	36
3.2.2 Características agronômicas	37
3.2.2.1 Grau de proteção da inflorescência pelas folhas	37
3.2.2.2 Presença de "pescoço"	37
3.2.2.3 Formato do fruto	37
3.2.2.4 Produção, número e peso médio de frutos	. 38
3.2.2.5 Teor de sólidos solúveis e pH dos frutos	38
3.2.2.6 Textura dos frutos.	40
3.2.2.7 Cor externa e interna dos frutos.	41
3.2.3 Características moleculares	42
3.2.3.1 Extração do DNA.	. 42
3.2.3.2 Quantificação do DNA	44
3.2.3.3 Análise de RAPD.	44
3.2.3.4 "Primers" utilizados	. 45
3.2.5 Métodos de análise dos dados	. 46

I	Página
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	. 48
4.1 Características morfológicas	49
4.1.1 Forma dos dentes do folíolo	. 49
4.1.2 Cor da folha.	. 51
4.1.3 Ângulo da base do folíolo	52
4.1.4 Razão entre o comprimento e a largura do foliolo	53
4.1.5 Posição da inflorescência em relação a folhagem	57
4.1.6. Tamanho do cálice em relação ao fruto	57
4.1.7 Cor de fruto imaturo	64
4.2 Características agronômicas	66
4.2.1 Grau de proteção da inflorescência pelas folhas.	66
4.2.2 Presença de "pescoço"	67
4.2.3 Formato do fruto.	71
4.2.4 Produção de frutos	74
4.2.5 Número de frutos.	83
4.2.6 Peso médio dos frutos.	85
4.2.7 Teor de sólidos solúveis	87
4.2.8 pH dos frutos	89
4.2.9 Textura dos frutos.	91
4.2.10 Cor externa e interna dos frutos	95
4.3 Características morfológicas e agronômicas correlacionadas	101
4.4 Perfil morfológico e agronômico dos cultivares	104

	Página
4.5 Características moleculares	106
4.5.1 Dendograma e grau de similaridade	110
4.5.2 Mapa de bandas ("bandmap")	115
4.5.3 Quadro de identificação	116
4.5.4 Chave dicotômica	123
4.6 Comparação de dados morfológicos, agronômicos e moleculares	125
4.7 A caracterização de cultivares e o melhoramento genético	130
5 CONCLUSÕES	134
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	136
APÊNDICE	151

## LISTA DE FIGURAS

	Pág	gina
1	Esquema para determinação do ângulo da base do folíolo mediano e abaixo há uma inflorescência esquematizada e como a hierarquia é definida.	35
2	Foto ilustrativa da marca deixada pelo fruto do cultivar 'Dover' cortado longitudinalmente e o triângulo circunscrito respectivo	39
3	Esquema da posição do fruto onde foi inserida a haste de base plana	40
4	Forma dos dentes do folíolo nos cinco cultivares estudados	50
5.	Aspecto do folíolo mediano nos cinco cultivares estudados. Nota-se o ângulo da base e as diferentes formas do folíolo mediano	55
6	Planta do cultivar 'Campinas' em fase de segunda florada	59
7	Planta do cultivar 'Dover' em fase de segunda florada	60
8	Planta do cultivar 'Guarani' em fase de segunda florada	61
9	Planta do cultivar 'Princesa Isabel' em fase de segunda florada	62
10	0 Planta do cultivar 'Agf 80' em fase de segunda florada	63

	Página
11 Frutos imaturos de segunda ou terceira ordem colhidos em época de segunda florada, dos cinco cultivares	65
12 Frutos inteiros dos cinco cultivares onde visualiza-se a forma dos frutos, a cor externa dos frutos e a ocorrência de "pescoço"	70
13 Forma dos frutos de morango, segundo o definido por Darrow & Valdo, citado por Camargo (1960)	. 72
14 Produção de frutos (g/planta) medida conforme os meses de colheita em Atibaia e Piracicaba, 1996	79
15 Produção de frutos (g/planta) dos cultivares nos meses de colheita em Atibaia (acima) e Piracicaba (abaixo), 1996	81
16 Textura dos cinco cultivares de morango, estimadas pela força de resistência a compressão, expressa em gramas, onde visualiza-se o primeiro pico (epiderme) e o segundo pico (polpa interna)	93
17 Aparência interna dos frutos visualizando-se diferencas de cor	100

# Página

18 Gel de RAPD com diferentes concentrações de MgCl <sub>2</sub> (uM). Sendo,	
da esquerda para a direita e seguindo a ordem das canaletas:	
1-marcador 100 bpa Dna Ladder, 2 e 3 (1,5 uM), 4 e 5 (1,8 uM),	
6 e 7 (2,0 uM), 8 e 9 (2,2 uM), 10 e 11 (2,5 uM), 12 e 13 (3,0 uM) e	
14 e 15 (3,5 uM). Nas canaletas pares dispuseram-se amostras da	
cultivar Dr.Morèrè e nas ímpares Toyonoka. "Primer" utilizado: B 5	108
19 Gel de RAPD com diferentes concentrações de DNA (ng/reação). Sendo,	
da esquerda para a direita e seguindo a ordem das canaletas: 1-marcador	
eco hind, 2 e 3 (5 ng), 4 e 5 (15 ng), 6 e 7 (20 ng), 8 e 9 (25 ng),	
10 e 11 (30 ng), 12 e 13 (35 ng) e 14 e 15 (45 ng). Nas canaletas pares	
dispuseram-se amostras da cultivar Dr.Morèrè e nas ímpares Toyonoka.	
"Primer" utilizado B 6	109
20 Dendograma obtido com os dados de RAPD nos 26 cultivares testados,	
com o índice de Jaccard. A numeração superior indica o grau de	
similaridade e os números indicam os cultivares, sendo L1.Dover,	
L2.Agf 80 L3.Campinas, L4.Princesa Isabel, L5.Guarani, L6.Piedade,	
L7.Jundiai, L8.Cruz, L9.Lassen, L10.Dabreak, L11.Monte Alegre,	
L12. Obaira, L13. Reiko, L14. Dr. Morèrè, L15. Mantiqueira, L16. Sequoia,	
L17.Florida Belle, L18.Fern, L19.Selva, L20.Korona, L21.Oso Grande,	
L22. Toyonoka, L23. Chandler, L24. Pajaro, L25. Blackmore e	
L26 Seascape	113

Página

21	Dendograma obtido com os dados de RAPD nos 26 cultivares testados,	
	com o índice de Simple Matting A numeração superior indica o grau de	
	similaridade e os números indicam os cultivares, sendo L1.Dover,	
	L2.Agf 80 L3.Campinas, L4.Princesa Isabel, L5.Guarani, L6.Piedade,	
	L7.Jundiai, L8.Cruz, L9.Lassen, L10.Dabreak, L11.Monte Alegre,	
	L12. Obaira, L13. Reiko, L14. Dr. Morèrè, L15. Mantiqueira, L16. Sequoia,	
	L17.Florida Belle, L18.Fern, L19.Selva, L20.Korona, L21.Oso Grande,	
	L22. Toyonoka, L23. Chandler, L24. Pajaro, L25. Blackmore e	
	L26.Seascape	114
	•	
22	Mapa de bandas obtido com os dados de RAPD nos 26 cultivares	
	(ítem 3.2.3) com o índice de Jaccard. Os números acima do mapa indicam	
	os cultivares, abaixo a quantidade de bandas da cultivar, na margem	
	esquerda o número de bandas de cada "marcador" e na margem direita a	
	denominação do "marcador"	118
23	Quadro de identificação que separa os 26 cultivares testados	
	individualmente, onde "+" indica a presença do "marcador" e "-" a	
	•	
	ausência. Na primeira coluna esta a denominação do "primer" (pr)	
	seguida da letra indicativa do "marcador" e na segunda o número de pares	
	de base (pb) do "marcador" e nas outras 26 colunas, os cultivares em	
	ordem crescente (item 3 2 3 )	119

	Página
24 Eletroforese em gel de agarose de RAPD, de plantas representativas dos	
26 cultivares testados com o "primer" Operon Technologies B 8, sendo a	
1º canaleta o "marcador" de peso molecular conhecido 100 bpa DNA	
ladder, a segunda o branco e as seguintes os cultivares em ordem crescente	
de numeração	120
25 Eletroforese em gel de agarose de RAPD, de plantas representativas dos	
26 cultivares testados com o "primer" Operon Technologies B 19, sendo a	
1º canaleta o "marcador" de peso molecular conhecido 100 bpa DNA	
ladder, a segunda o branco e as seguintes os cultivares em ordem crescente	
de numeração	121
26 Eletroforese em gel de agarose de RAPD, de plantas representativas dos	
26 cultivares testados com o "primer" Operon Technologies G 5, sendo a	
1º canaleta o "marcador" de peso molecular conhecido 100 bpa DNA	
ladder, a segunda o branco e as seguintes os cultivares em ordem crescente	
de numeração	122
27 Chave dicotômica de identificação dos cultivares expressas pelos números	
inteiros de 1 a 26. O número "1" indica a presença da banda e o número "0"	
a ausência. As denominações com letras intercaladas de números são os	
"marcadores"	124

# LISTA DE TABELAS

		Página
1	Número de folhas que apresentam as cores verde clara, verde média e verde escura do folíolo mediano, obtido em 200 amostras e cinco cultivares. Atibaia e Piracicaba, 1996	. 51
2	Ângulo (em graus) da base do limbo do folíolo mediano, média de 200 amostras em Atibaia e Piracicaba e análise conjunta dos experimentos, 1996	54
3	Medidas de razão entre o comprimento e a largura do limbo do folíolo mediano, média de 200 amostras em Atibaia e Piracicaba e análise conjunta dos experimentos, 1996	56
4	Número de plantas apresentando os tamanhos relativos do cálice pequeno, médio ou grande em relação ao tamanho do fruto em 200 amostras e cinco cultivares. Piracicaba e Atibaia, 1996	. 58
5	Número de frutos imaturos apresentando as cores branco, verde claro e verde médio em 200 amostras e cinco cultivares. Piracicaba e Atibaia, 1996	. 64
6	Número de plantas com inflorescências pouco, regularmente ou muito protegidas pelas folhas em 64 plantas e cinco cultivares. Piracicaba e Atibaia. 1996	67

# Página

7	Número de frutos com presença ou ausência de "pescoço" em 200 amostras de frutos de cinco cultivares. Piracicaba e Atibaia, 1996	69
8	Razão entre a base e a altura do triângulo circunscrito no fruto, média de 200 amostras em Atibaia e Piracicaba e análise	
	conjunta dos experimentos, 1996	73
9	Produção total de frutos (g) pôr planta, média de 64 plantas em	
	Atibaia e Piracicaba e análise conjunta dos experimentos, 1996	76
10	Produção mensal de frutos (g) pôr planta, média de todas as plantas em Atibaia e Piracicaba, 1996	78
11	Produção de frutos em alguns meses do final do ciclo com destaque para o ciclo de produção do cultivar 'Dover', mais curto em Atibaia	
	e mais longo em Piracicaba. Média de todas as plantas (g/planta)	82
12	Número total de frutos produzidos pôr planta, média de 64 plantas em Atibaia e Piracicaba e análise conjunta dos experimentos, 1996	84
13	Peso médio de frutos (g), média de todo o período produtivo em 64	
	plantas em Atibaia e Piracicaba e análise conjunta dos experimentos,	
	1996	86

	Página
14 Teor de sólidos solúveis expressos em graus Brix dos frutos, média de 12 amostras em Atibaia e Piracicaba e análise conjunta dos	
experimentos, 1996	88
15 pH dos frutos, média de 12 amostras em Atibaia e Piracicaba e	
análise conjunta dos experimentos, 1996	90
16 Textura média (expressa pela resistência a compressão em gramas)	
dos frutos inteiros de cinco cultivares de morango e classificação quanto ao grau de resistência a compressão. Dados da análise	
conjunta dos experimentos de Atibaia e Piracicaba, 1996	. 94
17 Componentes da cor externa L* (luminosidade) e c* (croma) dos	
frutos em cinco cultivares de morango e classificação quanto a cor.	
Dados médios da análise conjunta dos experimentos de Atibaia e	
Piracicaba, 1996	. 98
18 Componentes da cor interna (morangos cortados)	
L* (luminosidade) e c* (croma) dos frutos em cinco cultivares de	
morango e classificação quanto a cor. Dados médios da análise	
conjunta dos experimentos de Atibaja e Piracicaba, 1996	99

-		•	
Р	a	21	na

19	9 Correlações entre as características quantitativas estudadas dada	
	pelo valor de "r". Sendo 1. ângulo da base do folíolo, 2. textura	
	dos frutos, 3. produção total de frutos, 4. teor de sólidos solúveis	
	dos frutos, 5. pH dos frutos, 6. relação entre o comprimento e a	
	largura do folíolo, 7. número de frutos, 8. peso médio dos frutos,	
	9. croma para cor externa dos frutos, 10. croma para cor interna	
	dos frutos, 11 luminosidade para cor externa dos frutos,	
	12. luminosidade para cor interna dos frutos	103
2	O Grau de similaridade entre os cinco cultivares testados com os	
	dados morfológicos e agronômicos pelo índice de Jaccard na parte	
	superior e dendograma dos 5 cultivares testados para as	
	características morfológicas e agronômicas na parte inferior. A	
	numeração superior do dendograma indica o grau de	
	similaridade sendo que o número um indica 100 % de similaridade,	
	e os números indicam os cultivares, sendo L1.Dover, L2.Agf 80,	
	L3. Campinas, L4. Princesa Isabel e L5. Guarani	127
2	1 Grau de similaridade entre os cinco cultivares testados com os	
	dados moleculares pelo índice de Jaccard na parte superior e	
	dendograma dos 5 cultivares testados com os dados de RAPD na	
	parte inferior. A numeração superior do dendograma indica o	
	grau de similaridade sendo que o número um indica 100 % de	
	similaridade, e os números indicam os cultivares, sendo L1.Dover,	
	L2.Agf 80, L3.Campinas, L4.Princesa Isabel e L5.Guarani	128

D /	•
Pά	gına
ı a	gmu

22 Grau de similaridade entre os cinco cultivares testados com os	
dados morfológicos, agronômicos e moleculares pelo índice de	
Jaccard na parte superior e dendograma dos 5 cultivares testados	
com os dados de RAPD na parte inferior. A numeração superior	
do dendograma indica o grau de similaridade sendo que o	
número um indica 100 % de similaridade, e os números indicam	
os cultivares, sendo L1 Dover, L2. Agf 80, L3. Campinas,	
L4 Princesa Isabel e L5 Guarani	129

ESTUDO DE CARACTERES MORFOLÓGICOS, AGRONÔMICOS E MOLECULARES EM CULTIVARES DO MORANGO

(Fragaria x ananassa Duch.)

Autor: JOSÉ HENRIQUE CONTI

Orientador: Prof. Dr. FLAVIO CESAR ALMEIDA TAVARES

**RESUMO** 

Neste trabalho foi feito o estudo de caracteres morfológicos, agronômicos e moleculares em cultivares do morango, com o objetivo de conhecer melhor os diferentes cultivares que estão sendo introduzidos no Brasil e verificar se os dados morfológicos e agronômicos guardam correlação com os moleculares.

Foram coletados dados de experimentos de campo em Atibaia (SP) e Piracicaba (SP), no ano de 1996, delineamento em blocos ao acaso, com quatro repetições e dezesseis plantas por parcela com os cultivares 'Campinas', 'Dover', 'Guarani', 'Princesa Isabel' e 'Agf 80'. As características morfológicas analisadas foram a forma dos dentes, o ângulo da base e a razão entre o comprimento e a largura do folíolo, a cor da folha, a posição da inflorescência em relação a folhagem, o tamanho do cálice em relação ao fruto e a cor de fruto imaturo. As características agronômicas analisadas foram o grau de proteção da inflorescência pelas folhas e as características de fruto de presença de "pescoço", formato, produção, número e peso médio, teor de sólidos solúveis, pH, textura e cor externa e interna. A caracterização molecular, pelo polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (RAPD), utilizou adicionalmente os cultivares plantados em vasos 'Piedade', 'Jundiaí', 'Cruz', 'Lassen', 'Dabreak', 'Monte Alegre', 'Obaira', 'Reiko', 'Dr. Morèrè', 'Mantiqueira', 'Pajaro', 'Sequoia', 'Florida Belle', 'Fern', 'Selva', 'Korona', 'Oso Grande', 'Toyonoka', 'Chandler', 'Blackmore' e 'Seascape'.

As características morfológicas com maior poder de discriminação foram o ângulo da base do folíolo e a razão entre o comprimento e a largura do folíolo. As agronômicas foram o peso, o teor de sólidos solúveis, o pH, a textura, a cor externa e interna e a presença de "pescoço" nos frutos. As moleculares foram os "marcadores" gerados pelos "primers" Operon B8, Operon B19 e Operon G5. Os resultados da análise de similaridade entre os cultivares foram equivalentes, quando utilizadas características morfológicas e agronômicas ou moleculares, indicando que os métodos de caracterização tiveram o mesmo poder de resolução na distinção dos cultivares. Devido ao agrupamento dos cultivares 'Dover' e 'Princesa Isabel', possivelmente esta última guarda relações de origem com 'Dover', embora nada conste nos registros a este respeito. O cultivar 'Agf 80' não dispõe de registros de origem, mas devido a impossibilidade de distinção com o cultivar 'Campinas', pelos métodos utilizados, pode-se propor que se tratam do mesmo cultivar.

As medidas de cor interna, textura e presença de "pescoço" possibilitaram indicar o cultivar 'Guarani' como apto para o uso industrial e 'Dover' como pouco apropriado. Em função das medidas de peso, teor de sólidos solúveis, pH e textura, os cultivares 'Campinas', 'Agf 80' e 'Princesa Isabel' são os mais adequados ao consumo "in natura", enquanto que 'Guarani' e 'Dover' são impróprios. Os dados de resistência a compressão, que estimam a textura dos frutos, comprovam que os cultivares 'Guarani', 'Dover' e 'Princesa Isabel' são os mais resistentes ao transporte e 'Campinas' e 'Agf 80' os menos resistentes.

MORPHOLOGICAL, AGRICULTURAL AND MOLECULAR STUDY OF

STRAWBERRY CULTIVARS (Fragaria x ananassa Duch.) CHARACTERS

Author: JOSÉ HENRIQUE CONTI

Adviser: Prof. Dr. FLAVIO CESAR ALMEIDA TAVARES

**SUMMARY** 

With the objective of knowing the different strawberry cultivars that are

being introduced in Brazil, and to verify if the morphological and agricultural data keeps

correlation with the molecular ones, in this work it was made the morphological,

agricultural and molecular study of characters.

Field data experiments were collected in two different cities in the state of

São Paulo (Atibaia e Piracicaba) in 1996. The method was performed in random blocks

with four repetitions and sixteeen plants per batch using the following cultivars:

'Campinas', 'Dover', 'Guarani', 'Princesa Isabel' and 'Agf 80'. The morphological

characteristics screened were the form of the teeth, the angle of the base, and the reason

between the lenght and the width of the leaf, the color of the leaf, inflorescence position

regarding the canopy, calix size related to the fruit and imature fruit color. The

agricultural characteristics screened were the degree of protection of the inflorescence for

the leaves and the characteristics of fruit of neck presence, format, production, number

and medium weight, amount of soluble solids, pH, texture and external and internal color.

The molecular characterization by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), was

performed with the cultivars already screened and the following cultivars: 'Piedade',

'Jundiai', 'Cruz', 'Lassen', 'Dabreak', 'Monte Alegre', 'Obaira', 'Reiko', 'Dr. Morèrè',

'Mantiqueira', 'Pajaro', 'Sequoia', 'Florida Belle', 'Fern', 'Selva', 'Korona', 'Oso Grande', 'Toyonoka', 'Chandler', 'Blackmore' and 'Seascape'.

The morphological characteristics that show better discrimination were the angle of the base of the leaf and the reason between the lenght and the width of the leaf. The agricultural ones were weight, amount of soluble solids, pH, texture, external and internal color and neck presence in the fruits. The molecular ones were the markers produced by the primers Operon B8, Operon B19 and Operon G5. The results of the similarity analysis among the cultivars were equivalent, when using morphological and agricultural or molecular characteristics, indicating that the methods had the same resolution power in the distinction of the cultivars. Due to the grouping of the cultivars 'Dover' and 'Princesa Isabel', possibly this last has origin relationships with 'Dover', although nothing is published. The 'Agf 80' cultivar doesn't have origin registrations, but due to distinction impossibility with 'Campinas' for the used methods, it can intend that are the same cultivar.

The internal color measures, texture and neck presence indicate the 'Guarani' cultivar as suitable for the industrial use and 'Dover' as not very appropriate. In function of the weight measures, amount of soluble solids, pH and texture, the 'Campinas', 'Agf 80' and 'Princesa Isabel' cultivars are the most suitable to the fresh market while 'Guarani' and 'Dover' are inappropriate. The texture of the fruits show that the 'Guarani', 'Dover' and 'Princesa Isabel' cultivars are the most transport resistant and 'Campinas' and 'Agf 80' the less resistant ones.

## 1 INTRODUÇÃO

O morango é produzido nas mais variadas regiões do mundo, apreciado por milhões de pessoas em todos os tipos de clima, desde zonas temperadas, mediterrânea, subtropical até zonas de taiga. A espécie cultivada, *Fragaria x ananassa* Duch., é um híbrido de duas espécies originárias da América, *Fragaria virginiana* e *Fragaria chiloensis*. A espécie *F. virginiana* é nativa do Canadá e Estados Unidos, enquanto que *F. chiloensis* é encontrada no Chile e desde a costa da Califórnia até as ilhas Aleutas, no norte do continente. A espécie cultivada, *Fragaria x ananassa*, se desenvolve em todo o mundo, mas populações naturais desta espécie são restritas a costa da Califórnia e aos estados de Oregon e Washington, EUA. Os EUA é o maior produtor e a Califórnia concentra aproximadamente 80 % das culturas americanas (Hancock & Luby, 1993). Dados da Fao (1997) indicavam que, na safra de 1996, a Polônia era a segunda maior produtora, seguida pelo Japão, Espanha, Itália, República da Korea, Russia e França.

No Brasil, o estado de Minas Gerais tem a maior área ocupada com a cultura do morango e o estado de São Paulo tem a segunda maior área (IBGE, 1998). Dados do Levantamento de Unidades de Produção Agrícola (LUPA), realizado pela Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI) nos anos de 1995 e 1996 indicam que, no estado de São Paulo, há uma área ocupada de 1.503,90 hectares (ha) com a cultura do morango e as cidades de Atibaia, Jarinu e Piedade são as que tem a maior área de produção (CATI, 1998).

Segundo Sjulin & Dale (1987) o melhoramento tem estreitado a base genética do morangueiro cultivado e, além disso, Scott & Lawrence (1975) comentam que, em geral, a maioria dos cultivares de morangueiro teve origem de poucos ancestrais. O sucesso no desenvolvimento de novas combinações de caracteres em futuros cultivares de morango pode ser limitado pela baixa diversidade genética e também porque atualmente não se conhece a diversidade do germoplasma disponível em programas de melhoramento, as informações de origem não dão uma indicação da diversidade genética e pode ocorrer que alguns cultivares sejam diferentes, apesar de apresentarem nomes muito semelhantes (Graham et al. 1996).

A cultura do morango teve grande expansão a partir da década de sessenta graças ao cultivar Campinas (Passos, 1997) e a novas técnicas de cultivo. Atualmente a ocorrência de antracnose ("flor preta") e a expansão da cultura para áreas distantes dos mercados consumidores tem levado o produtor de morangos a buscar novas técnicas de cultivo e novos cultivares. Assim, há diversos cultivares sendo testados nas regiões produtoras e o cultivar 'Dover' já ocupa área cultivada semelhante ao cultivar 'Campinas'. O cultivar 'Dover' não demonstrou possuir resistência a antracnose e também não está tendo boa aceitação pelo mercado consumidor, mas por ter frutos muito firmes, o seu cultivo tem aumentado em áreas distantes dos mercados consumidores.

Várias introduções de cultivares vem sendo feitas e atualmente ainda não se dispõe de sua caracterização, assim foi proposto o presente trabalho, com o objetivo de realizar a caracterização morfológica, agronômica e molecular em diversos cultivares do morango. A caracterização morfológica é a base atual para o registro institucional de cultivares do morango e a caracterização agronômica fornece informações para o melhoramento genético, para o cultivo comercial e na determinação da finalidade de uso dos cultivares. A caracterização molecular permitirá separar clones indistinguíveis morfologicamente e poderá trazer parâmetros exatos para o registro de cultivares,

<sup>1</sup> CRUZ, P.C. (Casa da Agricultura, Atibaia SP). Comunicação pessoal, 1997.

nacionais ou introduzidos, possibilitando o controle varietal adequado na produção de mudas. Estes dados permitem avaliar o distanciamento genético, auxiliando na escolha de clones para o melhoramento genético e distinguindo os materiais introduzidos que apresentam diferenças em relação aos cultivares aqui existentes. O estudo comparado da caracterização morfológica e agronômica com a molecular poderá indicar se é viável caracterizar os cultivares de morango com dados moleculares.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

O morangueiro é planta rasteira, da família Rosaceae, gênero Fragaria (Queiroz-Voltan et al., 1996). O sistema radicular do morangueiro é fasciculado e superficial e a parte central da planta, denominada coroa, é formada por entre nós bem curtos e circundada pelas folhas (Groppo et al., 1997) que, segundo Lemaitre & Linden (1968), se dispõem aos pares ao longo do tufo principal e são constituídas de um pecíolo longo com três folíolos, um mediano e dois laterais, o mediano é simétrico e os laterais assimétricos, sendo que o mediano é maior e regular. Groppo et al. (1997) também explicam que os estolhos possuem internódios maiores, nas quais se desenvolvem as raizes e folhas e as flores, de pétalas brancas, se reúnem em inflorescências do tipo racimo, completas e auto-férteis nos cultivares comerciais. Filgueira (1982) também afirma que nos cultivares plantados no Brasil as flores são hermafroditas, sendo a planta autopolinizada. A produção de sementes interessa somente ao melhorista, não ao agricultor pois a planta é propagada vegetativamente por estolhos. Camargo (1963) explica que a parte comestível, carnosa e suculenta do morango é um receptáculo dos verdadeiros frutos que são os aquênios, pequeninos, duros e superficiais. Entretanto, para fins comerciais, denomina-se fruto ao conjunto do receptáculo carnoso mais os aquênios, denominação adotada neste trabalho.

A temperatura e o comprimento do dia são os fatores que controlam a frutificação no morangueiro. A temperatura diurna é um fator crítico pois, quando elevada os frutos desenvolvidos são pobres de sabor, ácidos e pouco firmes, sendo a temperatura de 10 °C durante a manhã ideal para amadurecimento de frutos de alta qualidade. O comprimento do dia afeta a cultura pois dias curtos estimulam a frutificação

e dias longos a fase vegetativa, caracterizada pela emissão de estolhos. A interação entre o fotoperíodo e a temperatura determinam a adaptação de uma certa cultivar para uma localidade. Desse modo, o morangueiro pode ser considerado como uma cultura típica de clima temperado, no entanto, o cultivo em clima tropical também é viável desde que utilizados cultivares adaptadas. No Brasil, os cultivares desenvolvidas pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC) tem um bom desempenho quando plantadas em regiões tropicais desde que cultivadas em locais de altitude elevada. A época de plantio recomendada para o Centro-Sul do Brasil é entre os meses de março e maio, obtendo-se produções de maio a dezembro. Plantada nesta época a cultura encontra fotoperíodos ainda suficientemente longos para permitir um bom desenvolvimento vegetativo inicial, favorecido também pela temperatura inicialmente um pouco mais elevada. Nos meses de junho e julho os dias tornam-se mais curtos e a temperatura declina, favorecendo a floração, a frutificação e o desenvolvimento de frutos de boa qualidade. A partir dos meses de setembro e outubro, a temperatura se eleva e os dias se alongam, favorecendo a fase vegetativa e a planta emite estolhos, terminando o período produtivo (Filgueira, 1982).

### 2.1 Origem, evolução e citogenética

A origem do morango cultivado, descrita por Darrow (1966), é citada por Hancock & Luby (1993) como a mais fascinante história de todas as espécies cultivadas. *F.x ananassa* é uma espécie octaplóide (2n=8x=56) originária de uma hibridação acidental entre as espécies octaplóides americanas *F. chiloensis* (2n=8x=56) e *F. virginiana* (2n=8x=56) em um jardim botânico europeu há aproximadamente 250 anos. Plantas de *F. virginiana* chegaram a Europa no final do século XVII por diversas rotas desconhecidas, enquanto que algumas plantas de *F. chiloensis* foram levadas a França em 1714 pelo capitão francês, François Frenzier, enviado ao Chile para espionar fortificações espanholas e se interessou pelas plantas de *F. chiloensis* de frutos grandes, cultivadas

pelos nativos da região de Concépcion. De início, introduções de ambas, *F. virginiana* e *F. chiloensis*, se desenvolveram separadamente na Europa e tiveram um sucesso apenas moderado. As primeiras coleções de *F. virginiana* tinham frutos macios e pequenos que eram apenas ligeiramente superiores ao morango europeu, da espécie diplóide *F. vesca* (2n=2x=14). O morango chileno foi um grande desapontamento porque Frenzier, sem saber, trouxe apenas plantas fêmeas e nenhuma planta macho para servir de polinizadora. Quando *F. virginiana* foi identificado como polinizador de *F. chiloensis*, esta espécie mostrou seu verdadeiro potencial. Em Best, na França, por volta de 1750, plantas fêmeas trazidas por Frenzier foram plantadas com plantas macho de *F. virginiana* e os primeiros híbridos de *F. x ananassa* se desenvolveram. O melhoramento do morango teve início na Inglaterra em 1817 quando Thomas A. Knight, usando as espécies *F. virginiana* e *F. chiloensis*, produziu os cultivares 'Downton' e 'Elton'.

Arulsekar, et al. (1981), baseados em evidências genéticas, acreditam que a estrutura genômica dos octaplóides é altamente diploidizada e propõem que a mesma seja modificada de AAA'A' BBB'B' para 2A2A' 2B2B'.

### 2.2 Hibridação interespecífica

A base genética do morango cultivado atualmente (*Fragaria x ananassa* Duch.) está limitada a alguns clones, por esta razão, novos octaplóides são necessários (Sjulin & Dale, 1987). A ampliação desta base genética é possível utilizando-se as espécies selvagens do gênero *Fragaria*. Scott & Lawrence (1975), comentam que a hibridação interespecífica entre espécies selvagens de *Fragaria* e o octaplóide *Fragaria x ananassa* Duch. via cruzamento sexual tem sido feita por diversos melhoristas. No entanto, a incompatibilidade sexual de espécies de diferentes níveis de ploidia, tem resultado em progênies estéreis e limitado o sucesso de cruzamentos interespecíficos. Bringhurst & Gill (1970) acreditam que a baixa fertilidade de cruzamentos entre espécies com diferentes níveis de ploidia pode ser minimizada com o uso de colchicina.

Evans (1982) obteve plantas férteis octaplóides, com sucesso, denominadas Guelph SO1 e Guelph SO2, a partir de morangos selvagens com diferentes níveis de ploidia. Guelph SO1 é um híbrido de *F. moschata* (2n=6x=42) e *F. mubicola* (2n=2x=14) obtidos após duplicação dos cromossomos de híbridos interespecíficos. Guelph SO2 é o resultado do sucesso do cruzamento entre *Fragaria vesca* (2n=2x=14) e *F. viridis* (2n=2x=14) o qual, após duplicação dos cromossomos, foi cruzado com *F. moupinensis* (2n=4x=28). O híbrido interespecífico foi tratado com colchicina para produzir uma planta octaplóide (2n=8x=56). Ambos os clones tem características importantes para a produção do morango, como florescimento tardio, alto número de inflorescências e grande número de flores por inflorescências, vigor e aroma agradável.

Sangiacomo & Sullivan (1994) trabalharam com os octaplóides sintéticos desenvolvidos por Evans (1982) e estudaram a viabilidade do pólen. O resultado deste trabalho mostrou que altos níveis de performance podem ser restaurados em híbridos F1 com dois cruzamentos e seleção intensiva para características de interesse agronômico, indicando que o uso de octaplóides sintéticos representa um eficiente método para aumentar a base genética do morango cultivado. A grande vantagem desta técnica é a capacidade de juntar o germoplasma de duas ou mais espécies em um único genótipo octaplóide, que seja compatível para cruzamento com o morango octaplóide moderno cultivado.

#### 2.3 Melhoramento

Scott & Lawrence (1975) explicam que, no morango, alguns trabalhos se preocupam com os estudos ligados à parte genética e herança dos caracteres, e outros se dedicam a estudos aplicados visando diretamente o melhoramento dos cultivares. Os caracteres de interesse na maioria dos programas de melhoramento são bastante parecidos e a importância relativa de cada um difere entre os melhoristas, pois depende das condições de cada região onde esta sendo realizado o trabalho. Os autores também afirmam que a produção, o vigor e o hábito de frutificação são as características da planta

de interesse primário e universal nos programas de melhoramento. Outras características são objetivos de programas de melhoramento dependendo dos interesses do melhorista e dos problemas existentes na região produtora, dentre estes, os autores citam a resistência a doenças, a resistência a ácaros, a resistência a altas temperaturas, o amadurecimento em períodos curtos, o tempo para amadurecimento, etc. Um objetivo perseguido em todos os programas de melhoramento aplicado é a obtenção de cultivares que se adaptem às condições ambientais regionais.

Camargo & Passos (1993) explicam que a coleção ativa do germoplasma dessa cultura vem sendo constantemente avaliada agronomicamente. Para a resistência a alguns fungos, qualidade do produto e produtividade e seus componentes há possibilidade de melhoramento utilizando o germoplasma do morango cultivado (*Fragaria x ananassa* Duch), no entanto, para outras características como a resistência a ácaros, há a necessidade de recorrer ao morango octaplóide selvagem.

Scott & Lawrence (1975) comentam que é complicado entender a genética do morango devido aos vários níveis de ploidia, a origem híbrida da maioria das espécies poliplóides e à combinação de herança de caracteres descontínua e contínua em uma mesma planta. Camargo & Passos (1993) também expõem que, em geral, no morango cultivado a estrutura genética é altamente heterozigota e a herança da maioria dos caracteres é quantitativa sendo de dificil separação as expressões fenotípicas resultantes da ação dos componentes aditivo, dominante e epistático e da influência do ambiente. Isto dificulta o melhoramento, pois clones selecionadas pelo bom desempenho podem comportar-se como pais ruins, dificultando a predição do comportamento dos descendentes. Por outro lado, o sistema de propagação vegetativa do morango cultivado favorece o desenvolvimento de cultivares, pois uma combinação vantajosa de caracteres pode ser perpetuada com facilidade, inclusive podendo ser exploradas as combinações gênicas complexas.

#### 2.3.1 Histórico no Brasil

Os cultivares de morango mais plantados no Brasil, até os dias atuais, foram obtidos no Instituto Agronômico de Campinas (IAC). Segundo Camargo (1960) o método de melhoramento seguido pelo IAC é o de cruzamento entre clones e a posterior seleção dos mais promissores.

O cultivar 'Campinas IAC 2712', obtido pelo engenheiro agrônomo Leocádio de Souza Camargo, em 1955, é a planta número seis do cruzamento entre os cultivares 'Donner' e 'Tahoe', ambos procedentes da Universidade da Califórnia, EUA. O cultivar 'Monte Alegre IAC 3113' é a planta número um do cruzamento feito em 1958 entre o cultivar 'Campinas IAC 2712' e o híbrido 'IAC 2747' (Camargo et al., 1963). O cultivar 'Dr. Morère', introduzido em 1944 da Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz' em Piracicaba, foi a testemunha do experimento de Camargo et al. (1963), por ser ainda o mais cultivado no estado de São Paulo. Alguns anos mais tarde, Camargo et al. (1966), obteve dados com engenheiros agrônomos regionais e verificou que, em 1965, o município paulista de Atibaia produzia aproximadamente 40% da produção total do estado de São Paulo e os principais cultivares plantados eram 'Campinas' (57,7%), 'Monte Alegre' (42%) e outros cultivares (0,3%), indicando que os cultivares desenvolvidos pelo IAC eram a base da cultura do morango no estado de São Paulo.

Desde 1941, na Estação Experimental "Theodureto de Camargo", em Campinas, bem como na Estação Experimental de Monte Alegre do Sul, a partir de 1952, e na Estação Experimental de Jundiaí, desde 1964, estudaram-se ao todo quarenta e nove cultivares de morango procedentes do país e do exterior e aproximadamente dois mil "seedlings" obtidos de cruzamentos feitos em Campinas, Monte Alegre do Sul e no exterior. Os melhores "seedlings" foram para o campo juntamente com os cultivares, para observação do comportamento em condições semelhantes às da cultura. O material com melhores qualidades, particularmente quanto à produtividade, ao tamanho, paladar, etc., entrou nos ensaios de comparação de cultivares (Camargo et al., 1968a). Diversos

ensaios foram realizados nestas estações experimentais, nos quais sempre se destacaram como promissores os cultivares 'Campinas' e 'Monte Alegre' (Camargo et al., 1963; Camargo et al., 1966; Camargo et al., 1968 a e b; Camargo et al., 1969 e Camargo et al., 1974).

O cultivar 'Campinas' apresenta frutos grandes, cônicos, com pescoço, boa firmeza e coloração vermelho rosada brilhante externamente e rosa internamente, com o miolo branco. O cálice destaca-se facilmente do fruto, que possui sabor adocicado e levemente ácido. Os frutos são pouco protegidos pela folhas, o que facilita a colheita. O cultivar 'Monte Alegre' apresenta frutos grandes, com boa firmeza e cônico-globosos. A cor é vermelho brilhante externamente e vermelho forte internamente. O cálice destaca-se facilmente do fruto. O sabor é levemente adocicado e regularmente ácido. As folhas protegem bem os frutos, dificultando a colheita mas protegendo os frutos novos que são mais susceptíveis a geadas (Camargo et al., 1968a). O cultivar 'Campinas' tem frutos com formato e sabor mais apreciados para o consumo 'in natura', enquanto que o cultivar 'Monte Alegre' tem características para o consumo industrial (Camargo & Passos, 1993).

Em 1974, o engenheiro agrônomo Francisco Antonio Passos, da Seção de Hortaliças de Frutos do IAC, através de cruzamentos entre os cultivares 'Campinas', 'Monte Alegre' e 'Alemanha', obteve o clone 'Guarani IAC 5074', com frutos firmes, vermelho externo e internamente, ácido e regularmente protegido pelas folhas (Tessaroli Neto, 1982). O cultivar 'Guarani' substituiu quase totalmente o cultivar 'Monte Alegre' em plantios comerciais e é o cultivar mais plantado para consumo industrial, assim como 'Campinas' ainda é o mais plantado para consumo "in natura". Em 1988 o IAC lançou o cultivar 'IAC Princesa Isabel', desenvolvido pelo engenheiro agrônomo Francisco Antonio Passos, selecionado do cruzamento realizado em 1981 entre os cultivares 'Alemanha' e 'IAC Jundiai'. O cultivar tem características de fruto que atende as necessidades do mercado de consumo "in natura". Os frutos são firmes, grandes, cônico alongados e vermelho-claro brilhantes (Camargo & Passos, 1993).

Outra instituição que trabalhou com o melhoramento genético do morango foi o departamento de Horticultura da FCA (Faculdade de Ciências Agrárias) de Botucatu (SP), onde Cunha & Biaggioni (1990) testaram híbridos obtidos em Botucatu e destacaram-se o híbrido 'FCA 711' e os cultivares 'Guarani' e 'Sequóia' em produção total de frutos comerciáveis.

A produção comercial do morango esta expandindo para outros estados do Brasil, onde estão sendo realizados experimentos regionais para determinar os cultivares mais adaptados. O estado do Rio Grande do Sul já produz morangos desde a década de sessenta e mais recentemente vem se destacando os estados de Minas Gerais, Paraná, Espírito Santo e Distrito Federal.

No Rio Grande do Sul, em experimentos com seis cultivares, conduzidos em Rincão dos Mosquitos por Grahl et al. (1974), destacaram-se os cultivares 'Camanducaia' e 'Monte Alegre' e, em Viamão, Soares & Soares (1974) testaram dez cultivares e se destacaram 'Campinas', 'Camanducaia' e 'Mantiqueira'. Madail et al. (1990) comenta que a industrialização do morango no Rio Grande do Sul alcançou o seu ponto máximo no final da primeira metade da década de setenta, declinou no final da década de setenta e voltou a melhorar no início dos anos oitenta com a adoção de mudas isentas de vírus.

Henz & Reifschneider (1990) comentam que o morango ocupa uma área de aproximadamente vinte e cinco hectares (ha) no Distrito Federal, toda ocupada pelo cultivar 'Campinas' e atualmente vem apresentando graves problemas com o surto da doença antracnose.

### 2.3.2 Melhoramento em regiões de clima temperado (média latitude)

Os EUA é o grande fornecedor de clones de morango melhorados para o mundo. Além de ser o maior produtor mundial, possui grande quantidade de germoplasma nativo em seu território. Na Califórnia, maior região produtora, tiveram origem os cultivares 'Sequoia', 'Tioga' e 'Aliso' que se destacaram na década de setenta e posteriormente foram substituídas pelos cultivares 'Chandler', 'Douglas', 'Pajaro' e 'Selva' (Faedi et al., 1989). O clima relativamente quente e úmido da Flórida (EUA) favorece o aparecimento de doenças, especialmente a antracnose, causada por fungos do gênero *Colletotrichum* (Howard et al., 1992). Trabalhos de melhoramento, desenvolvidos na Carolina do Norte e na Flórida, incorporaram a resistência a antracnose em cultivares melhorados, usando materiais locais de *F. x ananassa*. O cultivar 'Dover', selecionado na Flórida, apresenta pouca susceptibilidade a antracnose (Albregts et al., 1992). Este clone é resultado do cruzamento entre o cultivar 'Florida Belle' e o clone 'Fla. 71-189' (Howard & Albregts, 1980). Sjulin & Dale (1987) concluíram que 'Sequóia' e 'Tioga' representam 3/8 do pedigree de 'Dover'.

Na Itália, Damiano (1989) comenta que o programa de melhoramento nesse país visa combinar as boas características dos cultivares californianos de firmeza, cor, tamanho e forma de frutos com uma boa adaptação as condições italianas de produção. Os cultivares melhorados devem ter baixa susceptibilidade a doenças de solo, alta produção e adaptação a colheita mecânica.

A Argentina, com clima temperado, tem a facilidade de importar cultivares dos EUA e obter resultados bons em suas condições de cultivo. Gargantini (1989) comenta que na Argentina altas produtividades são alcançadas e os cultivares de morango mais plantados são 'Tioga', 'Pajaro', 'Aiko', 'Douglas', 'Tufts' e 'Hecker'.

### 2.3.3 O melhoramento em outras regiões tropicais e subtropicais (baixa latitude)

Os cultivares de morango melhorados para regiões temperadas, nem sempre mostram um bom desempenho quando cultivados em áreas tropicais. Diversos pesquisadores desses países estão encontrando esta dificuldade.

Dávalos (1979), comentando sobre o melhoramento genético do morango no México, expõem que o morango é demasiadamente sensível ao fotoperíodo e a temperatura, fatores que afetam a época e o período de frutificação e a quantidade e a qualidade do fruto. Em vista disso, qualquer cultivar selecionado para determinada localidade, quando plantado em outra região dificilmente apresenta elevada produção de frutos de qualidade.

Human & Evans (1989) trabalharam com melhoramento na África do Sul e obtiveram quatorze novos cultivares locais que permitiram um substancial aumento na produtividade do morango, sendo que apenas o cultivar 'Tioga', introduzido dos EUA, se adaptou as condições locais.

Rice Jr. (1990) testou cultivares de morango no Zimbabwe e os que se desenvolveram melhor foram os californianos 'Tioga', 'Chandler' e 'Rolinda'. Este autor comenta que o cultivo do morango nos trópicos é complicado pela complexa interação entre cultivares, fotoperíodo e temperatura, na produção de estolhos e na produção de frutos.

### 2.3.4 Interação genótipo x ambiente

Vários processos tem sido desenvolvidos para identificar a estabilidade de performance em diferentes condições ambientais. Pritts & Luby (1990) procuraram identificar no morango índices que representassem a estabilidade dos genótipos em vários ambientes, para facilitar a recomendação de cultivares para os produtores. Chandler et al. (1991) comentam que a antracnose e outras doenças de frutos, que afetam campos de morango na Flórida, são favorecidas pelo clima quente e chuvoso. As variações na temperatura e na pluviosidade que ocorrem durante o ciclo de produção do morango são diferentes ano a ano, contribuindo para as variações na incidência da doença e consequentemente alterando a produção. Em seu trabalho, concluíram que a interação do genótipo com o ambiente foi significativa para os caracteres de produção de frutos comerciais e peso de frutos, indicando que análises de estabilidade genéticas são interessantes.

Shaw & Hansen (1993) estudaram a relação entre caracteres que conferem o vigor de desenvolvimento da planta com a produtividade e concluíram que não há relação entre vigor em altas e baixas temperaturas, pois aqueles genótipos que se desenvolvem em baixas temperaturas também se desenvolvem em altas temperaturas. No entanto, vigor excessivo esta claramente relacionado com detrimento na produção precoce.

#### 2.4 Variabilidade e caracterização de cultivares

A variabilidade genética em populações é de grande importância para os geneticistas, melhoristas e taxonomistas. Melhoramento, classificação de espécies e estudos de evolução são baseados na variabilidade genética. Em populações de plantas, variabilidade e parentesco tem sido tradicionalmente baseados em características morfológicas como coloração de flores, tamanho e forma de folhas e flores, altura de plantas, etc.. Recentemente, a facilidade e a rapidez em obter dados fizeram dos "marcadores" moleculares um bom recurso no estudo da variabilidade genética e na caracterização de cultivares em várias culturas hortícolas. Um pequeno exemplo disto são os trabalhos de Miller & Tanksley (1990) com tomate, de Fidgore et al. (1988) em brássicas e de Panda et al. (1986) em pimentas.

Ferreira & Grattapaglia (1996) comentam que os "marcadores" moleculares apresentam diversas vantagens em relação aos "marcadores" morfológicos. A construção de mapas genéticos é muito mais fácil com "marcadores" moleculares pois menos cruzamentos são necessários para efeito de estudo de ligação gênica. "Marcadores" moleculares também são, em geral, neutros em relação a efeitos fenotípicos e são neutros ou tem um mínimo de efeito epistático ou pleiotrópico. Os "marcadores" morfológicos são na maioria das vezes dominantes ou recessivos enquanto que os moleculares são geralmente codominantes, o que resulta em maior quantidade de informação genética por loco. "Marcadores" moleculares podem ser identificados em seedlings, células ou tecidos, por outro lado os morfológicos, em geral, só são identificados em plantas adultas.

# 2.4.1 "Marcadores" com base em proteínas

Os primeiros tipos de "marcadores" moleculares, segundo Ferreira & Grattapaglia (1996), foram as isoenzimas, que são enzimas que desempenham a mesma atividade catalítica mas podem ter diferentes propriedades cinéticas e assim, serem separadas por processos bioquímicos. A técnica de isoenzimas é relativamente barata e tecnicamente acessível, no entanto apresenta limitações. Poucos locos podem ser detectados no genoma com isoenzimas e o número de alelos por loco, isto é, o nível de polimorfismo genético detectável em cada loco é geralmente pequeno resultando em um nível de resolução baixo. Isoenzimas também podem apresentar polimorfismos enzimáticos em resposta a condições ambientais, diferenças na atividade enzimática associadas a estádios diferentes de desenvolvimento e especificidade de formas isoenzimáticas em alguns tecidos vegetais.

### 2.4.2 "Marcadores" com base no DNA

Diversas técnicas que utilizam o DNA como "marcador" a nível molecular, tem sido desenvolvidas. "Restriction Fragment Length Polymorphisms" (RFLPs) tem sido usados com a finalidade de estudar o genoma em diversas espécies. O recente desenvolvimento da técnica de "Polymerase Chain Reaction" (PCR) para amplificar ácido desoxirribonucleico (DNA) e o uso de "Ramdomly Amplified Polymorphic DNA" (RAPD) mostraram ser de grande utilidade como recurso para estudo de genoma. RAPD compreende a amplificação de segmentos de DNA usando sequências de "primers", geralmente de dez bases nitrogenadas, para encontrar regiões polimórficas no genoma definidas pela sequência do "primer". Os produtos formados são separados em eletroforese em gel de agarose e revelam a variação nas sequências na forma de diferentes números de bandas de pesos diferentes que podem ser característicos de cultivares ou de espécies. A técnica de RAPD não necessita de informações prévias sobre as sequências

de DNA no genoma (Williams et al., 1990). A técnica de RFLP significa fragmentos polimórficos de restrição de DNA e consiste, basicamente, no uso de enzimas de restrição que cortam o DNA em sítios específicos. As enzimas normalmente usadas reconhecem sequências de 4 a 6 pares de base (pb). Supondo que os nucleotídeos distribuem-se ao acaso, uma sequência de 6 pb é esperada ocorrer a cada 409 pb do DNA genômico. Já as sequências de 4 pb são esperadas ocorrer a cada 256 pb do DNA. Portanto, as enzimas que reconhecem sequências de 4 pb cortam o DNA em maior número de fragmentos menores. Quando o DNA de duas plantas é tratado com uma mesma enzima de restrição cada um será cortado em alguns milhares de fragmentos. Ocorre que alguns fragmentos de DNA das duas plantas podem diferir em tamanho devido as seguintes razões: a) mutação no sítio de restrição, em uma das plantas, ocasionando a sua perda; b) ocorrência de aberrações como deleção, duplicação e translocação, na região entre os sítios de corte da enzima, alterando o seu tamanho. Em consegüência, será observado um polimorfismo de fragmentos. Tais fragmentos são identificados através de sondas complementares de DNA. A variação dos fragmentos devido a variação nos sítios de restrição, não significa que há variação funcional pois tais sítios podem ocorrer fora das sequências que codificam (Santos, 1994).

Vários autores estudaram as técnicas de RFLP e RAPD e apresentaram as vantagens e desvantagens de cada uma. Paran et al. (1991) constataram que a principal vantagem do RAPD comparando com o RFLP é a simplicidade na metodologia. Mailer et al. (1994) comentam que embora a metodologia do RFLP esteja muito bem estabelecida, a técnica tem várias desvantagens como o tempo longo e os equipamentos utilizados , além da necessidade de uso de material radioativo. Kesseli et al. (1994) trabalharam na confecção de um mapa de ligação em alface usando "marcadores" de RFLP e RAPD e concluiram que ambos mostram distribuição similar por todo o genoma e identificam níveis similares de polimorfismo, no entanto, locus de RAPD são muito mais rápidos de identificar mas mais dificeis de ordenar. Santos (1994) comenta que RAPDs apresentam um nível de resolução equivalente a RFLPs na determinação do parentesco entre genótipos. A técnica de RFLP tem a vantagem de poder usar DNA de qualquer parte da

planta, produzir resultados estáveis e principalmente independentes de efeitos ambientais onde se avaliam os genótipos. No entanto, possui algumas desvantagens, como alto custo de vários reagentes, requer grande quantidade de DNA de alta pureza, e também é uma técnica relativamente complexa. O RAPD inclui as vantagens do RFLP com o adicional de ser cerca de dez vezes mais rápido, ser muito mais simples, requerer uma quantidade muito menor de DNA, não usar a radioatividade e ser ligeiramente mais barato. Por estas razões e principalmente pela maior simplicidade, é uma técnica muito mais acessível aos geneticistas e melhoristas. Uma crítica frequente levantada em relação ao RAPD é quanto a repetibilidade de resultados. Com a finalidade de estudar a repetibilidade do método de RAPD, Levi et al. (1993) trabalharam com seis espécies frutíferas, inclusive morango e concluiram que o método de RAPD tem alta repetibilidade de fenótipos se forem seguidas algumas recomendações como o uso de detergente e temperatura de anelamento maiores que 42 °C. Parent & Pagé (1995); Gidoni et al. (1994) e Graham et al. (1996) também trabalharam com RAPD em Fragaria x ananassa Duch. e afirmaram ter obtido alta repetibilidade nos resultados. Williams & St.Clair (1993) compararam RFLP e RAPD e comentaram que "marcadores" de RAPD diferem de RFLP de várias maneiras e isto afeta a interpretação dos dados. "Marcadores" de RAPD são mais dominantes do que codominantes e a heterozigosidade de um indivíduo não pode ser detectada com "marcadores" de RAPD. Duas bandas de mesmo peso molecular originadas de um mesmo "primer" não são necessariamente homólogas como são em RFLP. A ausência de uma banda de RAPD poderá representar muitas formas alélicas de um loco, enquanto que a ausência de uma banda de RFLP representa, geralmente, a ausência de um locus.

Segundo Ferreira & Grattapaglia (1996) outros "marcadores" moleculares baseados em DNA estão sendo utilizados atualmente. Uma classe de "marcadores" de DNA envolvendo sequências repetitivas é denominado de "Variable Number of Tandem Repeats" (VNTR) que são sequências adjacentes que se repetem em número variável. Um loco hipervariável, também denominado minisatélite é constituído de um número variável de sequências idênticas repetidas lado a lado que podem ser detectadas pois

formam um pico distinto do pico principal de DNA em gradiente de Cloreto de Césio, por conter uma proporção de bases nitrogenadas G (guanina) e C (citosina) diferente da média do resto do genoma. "Marcadores" baseados em locos hipervariáveis qualificam-se para a identificação de indivíduos e verificação de casos de paternidade. No entanto, a aplicação desta técnica é limitada a casos onde já se possui um conhecimento prévio de qual sequência utilizar como sonda. Outro tipo de marcador são aqueles baseados na amplificação de microsatélites. Há diferentes classes de sequências repetidas, umas mais complexas e outras mais simples, estas foram denominadas de microsatélites ou "Simple Sequence Repeats" (SSR) e constituem-se de pequenas sequências com um a quatro nucleotídeos de comprimento, repetidas em tandem. Estes locos altamente polimórficos, amplificados via PCR foram também denominados de "Sequence Tagged Microsatelite Sities" (STMS). A maior limitação da tecnologia de microsatélite é a grande quantidade de trabalho necessário para o desenvolvimento prévio de "marcadores". A aplicação desta tecnologia exige grande quantidade de trabalho, pessoal especializado e equipamento sofisticado. Ferreira & Grattapaglia (1996) comentam que para várias espécies de plantas onde há elevado nível de diversidade genética do DNA, detectável com técnicas mais acessíveis, não justifica, hoje, a magnitude do investimento necessário para o desenvolvimento de "marcadores" baseados em SSR.

Segundo Ferreira & Grattapaglia (1996) a análise de "Amplified Fragment Length Polymorphism" (AFLP) ou polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados representa a tecnologia mais recente para a obtenção de um grande número de "marcadores" moleculares distribuídos em genoma de procariotos e eucariotos. A vantagem do AFLP é combinar a especificidade, resolução e poder de amostragem da digestão com enzimas de restrição e a velocidade e praticidade de detecção de polimorfismo via PCR. Esta técnica tem sido muito utilizada para "fingerprints" (impressão digital) , mapeamento genético localizado e construção de mapas genéticos principalmente em espécies de plantas cultivadas que apresentam uma baixa taxa de polimorfismo de DNA. Desse modo, a vantagem desta técnica é a maior capacidade de gerar polimorfismo de DNA, por esta razão é utilizada em espécies onde o polimorfismo gerado através da análise de RAPD é insuficiente.

#### 2.4.3 "Marcadores" moleculares em horticultura

Em horticultura, os "marcadores" moleculares tem sido utilizados em estudos de evolução, taxonomia, melhoramento genético, identificação de híbridos e mapeamento.

Prince et al. (1993) realizaram estudos de evolução em solanáceas após construir um mapa de pimenta usando RFLP e, comparando com o mapa de tomate, deram evidências que a evolução nas solanáceas é, em grande parte, baseada em inversões cromossômicas. Maluszynska & Heslop-Harrison (1993) estudaram a evolução no gênero *Brassica*, abordando os anfidiplóides, utilizando "probes" do DNA que codifica o ácido ribonucleico (RNA) ribossômico. Williams & StClair (1993) detectaram com RAPD e RFLP a variabilidade entre o tomate cultivado e espécies selvagens e teceram considerações sobre a origem do tomate cultivado, assim como Kesseli et al. (1991) que trabalharam com cinqüenta e cinco clones usados como "probes" em DNA fragmentado com três enzimas de restrição e definiram cento e quarenta e três locus em plantas de *Lactuca sativa* L. e mais cinco espécies selvagens de alface. Neste trabalho as teorias sobre a origem da alface cultivada foram estudadas detalhadamente e, pelos resultados, a hipótese de uma origem polifilética da alface cultivada foi considerada a mais provável.

Mcgrath & Quiros (1992) estudaram diversidade geográfica em *Brassica* campestris usando isoenzimas e RFLP e distinguiram três vezes mais alelos com RFLP do que com isoenzimas. Demeke et al. (1992) estudaram detalhadamente o gênero *Brassica* e a possibilidade do uso de RAPD em estudos de taxonomia e comprovaram que a técnica de RAPD pode ser utilizada para separar populações, espécies e talvez gêneros.

O conhecimento da similaridade genética entre genótipos é útil em programas de melhoramento porque ela facilita e torna eficiente a amostragem e a utilização de bancos de germoplasma. O melhorista pode usar a similaridade genética

para tomar decisões na escolha de genótipos para cruzamentos que darão origem a populações, ou utilizar a divergência entre os pais para a obtenção de híbridos, maximizando a expressão da heterose (Smith et al., 1990). Estimativas da similaridade genética baseada em RFLPs tem demonstrado eficiência para programas de melhoramento em genótipos de Brassica oleracea (Nienhuis et al., 1992). Dias et al. (1992) trabalharam com cultivares de Brassica oleracea, incluindo selvagens, e agruparam em cinco grandes grupos, baseado em RFLPs, para isso utilizaram cinquenta e cinco "probes" e duzentos e noventa e um fragmentos polimórficos. Mailer et al. (1994) trabalharam com RAPD em cultivares de Brassica napus e testaram cem "primers", destes setenta deram algum resultado e vinte e dois mostraram evidências de polimorfismo. Seis "primers" foram selecionados para estudo os quais produziram quarenta e três bandas claras e facilmente detectáveis, destes vinte e três mostraram polimorfismo entre cultivares. Jain et al. (1994) mensuraram com RAPD o distanciamento genético entre Brassica juncea cultivada e genótipos exóticos para descobrir quais seriam as melhores combinações para formar os melhores híbridos, para isso usou doze genótipos indianos e onze genótipos exóticos e achou quinhentos e noventa e cinco fragmentos amplificados, destes quinhentos apresentaram polimorfismo. Lefebvre et al. (1993), trabalhando com RFLP, testaram dez enzimas de restrição e utilizaram apenas uma enzima por "probe" e cento e quarenta e um fragmentos de restrição para determinar a distância genética entre e dentro das espécies Capsicum annum e Capsicum bacatum. Prince & Tanksley (1992) compararam dados de distanciamento genético mensurados por isoenzimas e RFLP no gênero Capsicum e comprovaram que os dendogramas são muito semelhantes. Nestes estudos foram utilizados acessos mexicanos de pimenta e os dados permitiram a confecção de um mapa e a estimar a fertilidade de possíveis cruzamentos. Wilkie et al. (1993) estimaram a distância genética entre cultivares e construíram um dendograma no gênero Allium utilizando RAPD.

Ishikawa et al. (1993) estudaram híbridos de *Capsicum annum* e *C. chinense* usando RAPD e demonstraram que o híbrido se desenvolvia graças a interação

de um gene do núcleo de *C. annum* com um gene do citoplasma de *C. chinense*. Tanksley & Young (1989) identificaram híbridos de pimentão baseados em polimorfismo usando RFLPs e Liveneh et al. (1992) identificaram híbridos de pimentão usando PCR e demonstraram que este método é mais simples e pode ser utilizado em escala comercial no controle da qualidade na produção de híbridos de pimentão.

Klein & Lankhorst (1991) construiram um mapa de tomate baseado em RAPD e Kennard et al. (1994) construiram um mapa em *Brassica oleracea* usando RFLP através do cruzamento de brocoli e repolho e estudo das características morfológicas em F2 pois estas hortaliças são opostas em determinadas características.

# 2.4.4 "Marcadores" em morangos cultivados

Atualmente, no Brasil, o registro institucional de cultivares do morango baseia-se em trabalho de Passos et al. (1994) onde são descritas as características morfológicos que devem ser consideradas na caracterização de cultivares do morango. Lemaitre & Linden (1968) realizaram trabalho detalhado descrevendo e discutindo as diversas características morfológicas que podem ser utilizadas na caracterização de cultivares do morango. Queiroz-Voltan et al. (1996) trabalharam com morango na estação experimental do IAC em Monte Alegre do Sul e realizaram a caracterização botânica dos cultivares 'Campinas', 'Agf 80', 'Guarani', 'Princesa Isabel', 'Sequoia' e 'Reiko' e montaram uma chave dicotômica para a separação dos cultivares e só não conseguiram distinguir o cultivar 'Campinas' de 'Agf 80'.

Nehra et al. (1991) testaram diversas isoenzimas em oito cultivares de morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) em plantas de cultura de tecidos e sob casa de vegetação. As enzimas leucina aminopeptidase (LAP), phosphoglucomutase (PGM) e phosphoglucoisomerase (PGI) demonstraram ser estáveis em todas as condições testadas. Além da estabilidade e reprodutividade dos dados, a presença de diversidade genética suficiente entre os cultivares para estes "marcadores" enzimáticos é um importante

requisito para a caracterização de cultivares. Esta presente, nas três enzimas estáveis e polimórficas testadas (LAP, PGM e PGI), variabilidade suficiente que permite caracterizar todas as oito cultivares testados em condições de cultura de tecidos e sob casa de vegetação. Estas enzimas também foram testadas por Bringhurst et al. (1981) e demonstraram capacidade de caracterizar outras oito cultivares de morango submetidas a condições de campo.

Graham et al. (1996) comentam que em morangos a combinação de características em futuros cultivares é limitado pela baixa diversidade genética, havendo a necessidade de introduzir genes exóticos. Esta diversidade também não esta bem definida e portanto disponível para o melhorista. Os autores também comentam que as informações de pedigree não são suficientes para estimar a diversidade pois atualmente há clones de nomes diferentes mas muito semelhantes. Em seu trabalho, Graham et al. (1996) trabalharam com oito clones de *Fragaria x ananassa* Duch. ('Cambridge Favourite', 'Melody', 'Rapsody', 'Symphony', 'Pegasus', 'Honeoye', 'Elisanta' e 'Evita') e cento e dezesseis "marcadores" de RAPD. Comparando os dendogramas formados com os dados de RAPD e com os dados de pedigree, concluiram que o grau de similaridade quando estimado através de pedigree é menor do que aquele calculado pelos dados moleculares, indicando que o método de pedigree apresenta diferenças grandes em cultivares que na verdade são semelhantes pelo método de RAPD.

Parent & Pagé (1995) trabalharam com 13 cultivares de morango canadenses utilizando dois "primers" (Operon G 11 e Operon F 7) e montaram uma chave dicotômica para a separação dos cultivares.

Gidoni et al. (1994) testaram os cultivares 'Chandler', 'Douglas', 'Dorit', 'Ofra', 'Oso Grande', 'Dover', 'Nurit' e 'Parker' com dez fragmentos de DNA polimórficos ("marcadores" de RAPD) sendo cinco do "primer" Operon G 2, um do "primer" Operon G 5, três do "primer" Operon F 7 e um do "primer" 1037 e montou um quadro de identificação dos oito cultivares testados.

# 2.5 Variações na tecnologia de produção comercial do morango

A cultura do morango teve grande avanço na década de setenta quando novas tecnologias de produção passaram a fazer parte da rotina dos produtores de morango. As principais modificações no sistema de produção foram a utilização de mudas sadias isentas de vírus, o uso de cobertura de solo com plástico de polietileno preto e a irrigação (Madail et al., 1990).

### 2.5.1 Micropropagação

O morango foi a primeira cultura frutífera a ser micropropagada em larga escala usando a técnica originalmente descrita por Boxus (1974). As plantas micropropagadas raramente são usadas para plantio direto no campo, devido ao alto custo e porque o tamanho do fruto dessas plantas tendem a ser menores que aqueles provenientes de propagação por estolhos (Zimmerman, 1991). Segundo Swartz et al. (1981) as plantas de cultura de tecidos tem geralmente produzido mais estolhos, então a prática tem sido a produção de plantas micropropagadas para matrizeiros que produzirão um ou dois anos de mudas de estolhos. Essas plantas propagadas por estolhos vão estabelecer os campos de produção. Este processo é especialmente benéfico em plantas de florescimento contínuo que produzem poucos estolhos.

O uso de material propagativo testado livre de vírus resultou em grande aumento na produtividade em um grande número de espécies de plantas de propagação vegetativa em diferentes partes do mundo. No Brasil, a produção de mudas de morangueiro a partir de matrizes básicas testadas livres de vírus produzidas no IAC, iniciada em 1967 em São Paulo, promoveu um aumento na produtividade de 15-20 t/ha em 1970 para 40-55 t/ha poucos anos mais tarde (Betti, 1991). Em outros países, a produção em larga escala começou no meio da década de setenta e foi particularmente intensiva na Itália onde a produção figurou próximo de 1.000.000 de plantas

micropropagadas por ano por vários anos. No entanto, em 1989, a produção na Itália diminuiu para não mais que 10 a 15 mil plantas por ano. A produção comercial também ocorreu em outros países como a França e a Bélgica e mais recentemente nos EUA (Zimmerman, 1991).

Algumas dificuldades tem ocorrido, atualmente, com o uso de plantas de morango micropropagadas ou plantas de estolhos derivadas delas. Isto inclui, má frutificação e frutos pequenos e mal formados. Na Itália, nos últimos anos, estes motivos tem levado a resistência ao uso de plantas de morango que vieram, anteriormente, de alguma geração de micropropagação. É dificil de determinar se os problemas tem ocorrido devido a defeitos na técnica de micropropagação, na aplicação da técnica, ou em ambas. No entanto, parece que os problemas que tem ocorrido são devidos ao stress causado pela pressão de competição no meio de cultura que deve ser modificado, particularmente para otimizar a concentração de citocinina. Estas dificuldades tem causado substanciais prejuízos para os produtores, viveiristas e laboratórios envolvidos (Zimmerman, 1991).

### 2.5.2 Cultivares, coberturas de solo e da cultura e formas de irrigação

Atualmente a cultura do morango enfrenta grave crise. A alta incidência de antracnose, doença conhecida como "flor preta" no morango, tem levado os agricultores a buscar novas alternativas. Duas maneiras estão sendo testadas, pelos agricultores, para a solução do problema. Uma delas é a utilização de novos cultivares supostamente mais resistentes a "flor preta". Esta foi a alternativa mais utilizada pelos agricultores através do plantio do cultivar 'Dover' a partir da década de noventa. Devido a introdução recente, não há dados científicos sobre o desempenho deste cultivar em nossas condições, mas nota-se que na região produtora de Atibaia (SP) e Jarinu (SP) ela tem apresentado maior susceptibilidade a bacteriose, resistência duvidosa a "flor preta" e características de frutos inadequadas ao consumo "in natura". Este cultivar, no entanto,

apresentou grande aceitação pelos agricultores quando estes, para escapar da antracnose, mudaram o local de plantio para áreas novas, distantes dos mercados consumidores, e este cultivar pela textura muito firme, mostrou-se adequada para o transporte a longas distâncias. A outra alternativa é a mudança no sistema de produção. Com a finalidade de estudar a introdução da irrigação por gotejamento, o cultivo protegido e o uso de cobertura morta de solo orgânica ou de polietileno, Passos (1997) realizou trabalho nesta região produtora com o cultivar 'Campinas' e concluiu que o cultivo protegido não afeta o desempenho da cultura sob a condição de escassez de chuva. Em relação a cobertura de solo, ficou demonstrado que a cobertura orgânica é mais interessante que a de polietileno pois chegou a aumentar até 18 % a produção. Quanto a irrigação, a técnica de aspersão, em relação a técnica de gotejamento, favoreceu o desenvolvimento de doenças causadas por fungos de solo até o início de outubro.

Olitta (1980), em Piracicaba (SP), trabalhou com a técnica de irrigação por gotejamento e estabeleceu parâmetros para a determinação da quantidade de água a ser aplicada na cultura do morango baseando-se na evaporação do tanque classe A. O autor comenta que a irrigação por aspersão apareceu antes da utilização do plástico preto como cobertura de solo, pois na época que a irrigação por aspersão foi introduzida a cobertura de solo era feita com material orgânico. Por esta razão, ele acredita que a irrigação por aspersão não é a mais adequada para o cultivo de morango com cobertura plástica de solo.

# 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Materiais

Os dados das características morfológicas e agronômicas foram obtidos em experimentos de campo com os cultivares 'Campinas', 'Dover', 'Guarani', 'Princesa Isabel' e 'Agf 80' sendo que as mudas foram fornecidos pelo viveirista Tadashi Harada da cidade de Joanópolis (SP). Os dados das características moleculares, obtidos em laboratório, utilizaram vinte e seis cultivares. Destes, vinte e cinco matrizes foram fornecidas pelo pesquisador científico Dr. Juarez A. Betti, da Seção de Virologia Fitotécnica do IAC e o cultivar 'Agf 80' que era proveniente do material fornecido pelo viveirista Tadashi Harada, já que a empresa Agroflora informou que não produzia mais o referido cultivar. A seguir será descrita, brevemente, a origem dos cultivares estudados neste trabalho.

'Dover' - Desenvolvido na Universidade da Flórida (EUA), este cultivar foi selecionado para a característica de resistência a antracnose nas condições da Florida, resultado do cruzamento realizado em 1973 entre o cultivar 'Florida Belle' e o clone 'Fla. 71-189'. Este clone é resultado do seguinte cruzamento: '69-1320' ('Florida 90' x 'Tioga') e 'Tioga' (Howard & Albregts, 1980). No Brasil houveram diversas introduções deste cultivar, a partir da década de noventa, boa parte delas clandestinamente e hoje produtores de mudas e órgãos governamentais propõem que 'Dover' seja o segundo cultivar mais plantado do Brasil. O material utilizado neste trabalho é procedente de uma introdução não oficial, ou seja, o material foi fornecido ao IAC por produtores.

'Agf 80' - Desenvolvido pela empresa Agroflora Reflorestamento e Agropecuária S/A.

'Campinas IAC 2712' - Desenvolvido em 1955 pelo IAC, resultado do cruzamento dos clones 'Doner' e 'Tahoe' (Camargo, 1960). Depois de lançado em pouco tempo este cultivar tornou-se o mais cultivado do Brasil. Apesar de não existir nenhum levantamento de área ocupada com cultivares de morango, podemos afirmar que, através de informações obtidas com produtores de mudas e órgãos governamentais, este cultivar é o mais cultivado do Brasil até os dias atuais.

'IAC Princesa Isabel' - Desenvolvido pelo engenheiro agrônomo Francisco Antonio Passos, selecionado do cruzamento realizado em 1981 entre os cultivares 'Alemanha' e 'IAC Jundiai' (Camargo & Passos, 1993).

'Guarani IAC 5074' - Desenvolvido pelo engenheiro agrônomo Francisco Antonio Passos, corresponde ao seedling número 13 selecionado da progênie do cruzamento realizado em 1974 entre os cultivares ('Campinas' x 'Monte Alegre') e 'Alemanha' (Camargo & Passos, 1993).

'IAC Piedade' - Desenvolvido pelo IAC, este cultivar é resultado do cruzamento realizado' em 1966 entre os cultivares 'Princesa I 3847' e 'Campinas IAC 2712', conforme anotado no livro de introduções de cultivares da Seção de Hortaliças de Frutos do IAC.

'Jundiai IAC 4204' - Desenvolvido pelo IAC, na Seção de Hortaliças de Frutos (antiga Seção de Olericultura), através do seguinte cruzamento realizado em 1967, pelo Dr. Leocádio de Souza Camargo: ['Campinas IAC 2712' x ('Monte Alegre IAC 3113'-planta 10)]-planta 4.

'Cruz' - Desenvolvido na Universidade da Flórida, resultado do cruzamento realizado em 1965 entre os clones 'Cal 37.20-45' e 'Sequoia', lançado em 1975 (Faedi, et al. 1988).

**'Lassen'** - Desenvolvido na Universidade da California. Segundo Thomas & Goldsmith (1945) foi selecionado em 1938 e lançado em 1939 resultado do seguinte cruzamento: {'Cal. 21-9' ['Blackmore' x 'Cal.29' ('Banner' x 'Fendalciano')]} x ['Cal 161-1' ('Nich Ohmer' x 'Cal. 86.6')].

'Dabreak' - Desenvolvido, possivelmente, na Universidade da California, chegou ao Brasil através da introdução 68788 da EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária),

'Monte Alegre IAC 3113' - Desenvolvido no IAC, na Seção de Hortaliças de Frutos, através do cruzamento realizado em 1958 entre o cultivar 'Campinas IAC 2712' e o híbrido 'IAC 2747', realizado pelo Dr. Leocádio de Souza Camargo. Informações retiradas do livro de introdução de cultivares da Seção de Hortaliças de Frutos do IAC.

'IAC Obaira' - Desenvolvido pelo IAC.

'Reiko' - Desenvolvido na Universidade de Tiba, Japão. O material foi fornecido ao IAC por produtores.

'Dr. Morèrè' - Este cultivar foi introduzida provavelmente pela firma Dierberger Agro Comercial de São Paulo e foi fornecida ao IAC pela Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), da Universidade de São Paulo (Camargo, 1963).

'IAC Mantiqueira' - Desenvolvido pelo IAC, resultado do cruzamento realizado em 1964 entre os clones 'Camanducaia IAC 3530' e 'IAC 3432'. Informações retiradas do livro de introdução de cultivares da Seção de Hortaliças de Frutos do IAC.

'Sequoia' - Desenvolvido na Universidade da California, através do cruzamento realizado em 1956 entre os clones 'Cal. 52.16-15' e 'CAl. 51.51-1' (Faedi et al., 1988).

'Florida Belle' - Desenvolvido na Universidade da Florida, selecionado do cruzamento realizado em 1966 entre os cultivares 'Sequoia' e 'Earlibelle' (Howard & Albregts, 1976). Introdução oficial pelo IAC.

- 'Fern' Desenvolvido na Universidade da California resultado do cruzamento realizado em 1972 entre os clones 'Tufts' e 'Cal. 69.62-103' e lançado em 1983 (Faedi et al., 1988).
- 'Selva' Desenvolvido na Universidade da California resultado do seguinte cruzamento realizado, segundo (Faedi et al., 1988) em 1975: 'Cal. 70.3-117' x ('Tufts' x 'Cal. 63.7-101').
- 'Korona' Desenvolvido na Holanda (IUT/Wageningen), resultado do cruzamento realizado em 1972 entre os cultivares 'Tamella' e 'Induka' (Faedi et al., 1988). O material foi fornecido ao IAC por produtores.
- 'Oso Grande' Desenvolvido na Universidade da California, resultado do cruzamento entre os cultivares 'Parker' e 'Cal. 77.3-603' (USA, Regents of the University of California, 1996a).
- 'Toyonoka' Desenvolvido no Japão, resultado do cruzamento entre os cultivares 'Himiko' e 'Harunoka' (Sakai, 1984). O material foi fornecido ao IAC por produtores.
- 'Chandler' Desenvolvido na Universidade da California, resultado do cruzamento relizado em 1977 entre os clones 'Douglas' e 'Cal. 72.361-105', lançado em 1983 (Faedi et al., 1988).
- 'Pajaro' Desenvolvido pela Universidade da Califórnia, lançado em 1979, resultado do cruzamento entre os clones 'Sequoia' e 'Cal. 63.7.101' (Faedi et al., 1988). Introdução não oficial.
  - 'Blackmore' Desenvolvido na Universidade da California.
- 'Seascape' Desenvolvido na Universidade da California, resultado do cruzamento entre os cultivares 'Selva' e 'Parker' (USA, Regents of the University of California, 1996b).

#### 3.2 Métodos

Os experimentos de campo foram conduzidos simultaneamente em dois locais distintos. Um foi conduzido em Atibaia (SP), no bairro do Arrozal, em propriedade denominada Fazenda Santa Rosa, localizada no centro da região produtora de morangos, em área do produtor Claudemir Rodrigues Spinassi, e em Piracicaba (SP), em área do Departamento de Horticultura da ESALQ/USP.

Piracicaba está localizada na latitude de 22° e 43° e longitude de 47° e 37° e a uma altitude de 505 m sobre o nível do mar. Em Piracicaba, o experimento foi plantado em solo denominado Terra Roxa Estruturada, segundo levantamento de reconhecimento de solos do estado de São Paulo, citado por Olitta (1980) e o clima é do tipo Cwa segundo classificação pelo sistema internacional de Koeppen. Atibaia está localizada na latitude de 23° e 07° e longitude de 46° e 33° e o experimento estava a uma altitude de 811 m. Em Atibaia, o solo onde se localizava o experimento é do tipo Latossolo Vermelho Escuro descrito por Carvalho (1975), e o clima predominante na região é o Cfb, descrito por Koeppen. Vale ressaltar que a letra "C" da classificação de Koeppen significa que a temperatura média do mês mais frio é inferior a 18 °C. A letra "w" significa que a região tem uma média pluviométrica menor que 30 mm no mês mais seco e o "f" significa mais que 30 mm de chuva no mês mais seco. Quanto a temperatura, a subdivisão é em "a" e "b" respectivamente, com mais e menos de 22 °C como temperatura média do mês mais quente (Setzer, 1966).

Os cultivares foram plantados em canteiros de 1,0 metro (m) de largura, distanciados de 0,4 m. O canteiro consistiu em quatro fileiras de plantas com espaçamento de 0,3 m por 0,3 m entre plantas. Os experimentos foram plantados da mesma maneira, em blocos casualizados, seguindo o proposto no trabalho de Nagai et al. (1978), contendo quatro blocos (repetições) e cinco cultivares, totalizando vinte parcelas compostas de dezesseis plantas. Entre cada parcela havia um espaçamento de 0,9 m e não foram colocadas plantas para bordadura pois segundo o mesmo autor não foi

comprovado efeito de bordadura nos experimentos conduzidos com estas recomendações.

Além das diferenças de solo e clima, os experimentos foram conduzidos com algumas diferenças nos dois locais. Em Atibaia, as mudas, de raiz nua, foram plantadas no dia 25 de março de 1996. Em Piracicaba, as mudas, de raiz nua, foram colocadas em bandejas de isopor no dia 8 de Abril de 1996 e plantadas no campo, com torrão, no dia 30 de abril de 1996. Em Atibaia, a mão de obra utilizada trabalhava na cultura do morango há vários anos e a aplicação de defensivos foi realizada com equipamento tratorizado estacionário. Em Piracicaba, a mão de obra não tinha experiência no cultivo comercial de morangos e a aplicação de defensivos foi realizada com equipamento costal. A adubação de plantio e as de cobertura foram baseadas em recomendações técnicas (Passos, 1990). Os experimentos foram conduzidos a céu aberto. O solo foi coberto com plástico de polietileno preto e a técnica de irrigação utilizada foi a de aspersão. Os tratos culturais e o controle de pragas e moléstias seguiram os conceitos tradicionais adotados na região produtora, ou seja, capinas manuais e pulverizações com fungicidas e inseticidas preventivas.

As características analisadas foram escolhidas com base nos trabalhos de Lemaitre & Linden (1968) e no trabalho de Passos et al. (1994) que dá os descritores mínimos para o registro institucional de cultivares de morango. Esses descritores, de acordo com Passos², foram estabelecidos orientando-se em Lemaitre & Linden (1968). As características escolhidas podem ser separadas em dois grupos, aquelas que se referem a morfologia da planta, da folha ou do fruto, denominadas morfológicas e aquelas que são de interesse agronômico. Estes dois grupos de características analisadas serão descritos a seguir.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> PASSOS, F. A. (Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, SP). Comunicação pessoal, 1996

# 3.2.1 Características morfológicas

A folha do morangueiro contém três folíolos. Na análise das características foliares foram coletadas folhas maduras, isto é, que não entraram em senescência mas já estão formadas e sempre o folíolo mediano é o escolhido e o que é realmente analisado é o limbo foliar<sup>3</sup>. A escolha de cinquenta amostras por parcela para as características morfológicas da folha seguiu as recomendações de Lemaitre & Linden (1968). Nos dois experimentos, em Atibaia e Piracicaba, os materiais analisados foram coletados na mesma fase de desenvolvimento da planta. As coletas de folhas foram realizadas sempre em época de primeira florada e a coleta de frutos foi realizada em frutos de segunda ou terceira ordem pois os frutos de primeira ordem podem ser muito defeituosos e os de quarta e quinta ordem são muito semelhantes e não apresentam o formato característico<sup>3</sup>. Um esquema da inflorescência do morangueiro e as ramificações também denominadas de hierarquia da inflorescência pode ser vista na Figura 1.

#### 3.2.1.1 Forma dos dentes do folíolo

A forma dos dentes do folíolo é aguda, intermediária ou arrendondada, segundo o descrito por Passos et al. (1994). Os folíolos medianos foram coletados na época da primeira florada.

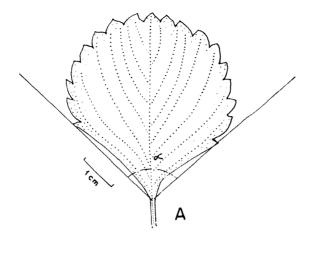
<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> QUEROZ-VOLTAN, R. B. (Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, SP). Comunicação pessoal, 1996.

#### 3.2.1.2 Cor da folha

A cor da folha, segundo Passos et al. (1994), é separada entre a verde clara, a verde média e a verde escura. A coleta dos folíolos medianos para a análise desta característica foi realizada em um único dia e período, época de primeira florada, em Atibaia. O mesmo ocorreu em Piracicaba, também em um dia da época de primeira florada. Segundo Lemaitre & Linden (1968) é um caráter sujeito a variações de acordo com a idade, estação do ano e luminosidade e, por isso, esta característica deve ser analisada sempre no mesmo dia e período.

# 3.2.1.3 Ângulo da base do folíolo

O ângulo da base do folíolo, em graus, foi medido com um transferidor (Figura 1) em época de primeira florada, de acordo com o proposto por Lemaitre & Linden (1968).



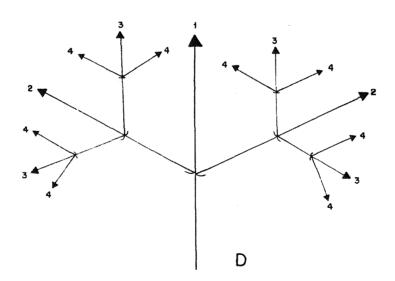


Figura 1. Esquema para determinação do ângulo da base do folíolo mediano e abaixo há uma inflorescência esquematizada e como a hierarquia é definida.

### 3.2.1.4 Razão entre o comprimento e a largura do folíolo

A análise desta característica seguiu o proposto por Lemaitre & Linden (1968). O comprimento e a largura do folíolo mediano foi medida com auxílio de uma régua em época de primeira florada e o dado utilizado neste trabalho foi a razão entre o comprimento e a largura.

#### 3.2.1.5 Posição da inflorescência em relação a folhagem

Segundo Passos et al. (1994) a inflorescência pode se posicionar acima da folhagem, abaixo ou apresentar inflorescência acima e abaixo da folhagem. Esta característica foi analisada em todas as plantas do experimento quando estavam no início da segunda florada.

# 3.2.1.6 Tamanho do cálice em relação ao fruto

Segundo Passos et al. (1994), o tamanho do cálice em relação ao fruto no estágio maduro pode ser pequeno, médio ou grande. Foram analisados cinquenta frutos de segunda ou terceira ordem no estágio maduro, por parcela, em época de segunda florada.

### 3.2.1.7 Cor de fruto imaturo

A cor do fruto imaturo foi estudada com base na descrição de Camargo & Passos (1993) que utiliza este fator para caracterizar os cultivares. Foi separada em branco, verde claro e verde médio. Esta característica foi determinada com cinquenta frutos por parcela de segunda ou terceira ordem no estágio imaturo em época de segunda florada. A avaliação foi realizado no mesmo dia e período em Atibaia e do mesmo modo em Piracicaba.

# 3.2.2 Características agronômicas

As características da planta e dos frutos que, por sua peculiaridade, influem na qualidade do fruto, no desempenho da produção ou afetam de alguma maneira a eficiência do sistema de produção foram consideradas de interesse agronômico.

## 3.2.2.1 Grau de proteção da inflorescência pelas folhas

O trabalho de Passos et al. (1994) propõem três situações: inflorescências pouco, regularmente ou muito protegidas pelas folhas. Esta característica foi analisada em todas as plantas dos experimentos na época de segunda florada.

# 3.2.2.2 Presença de "pescoço"

A ocorrência de um prolongamento afunilado na base do fruto do morango é denominado de "pescoço", sendo que a presença ou ausência desta característica é útil na separação de cultivares. Esta característica foi estudada com base no trabalho de Passos et al. (1994), verificando a presença ou ausência de "pescoço" em cinquenta frutos no estágio maduro, de segunda ou terceira ordem, na segunda florada, por parcela.

#### 3.2.2.3 Formato do fruto

Devido a dificuldade em separar frutos de formato cônico de cônico alongado, foi proposto neste trabalho, um sistema para distinguir frutos de morango com formato tipo cônico. Este método consiste em cortar os frutos de morango ao meio no sentido do maior comprimento. A face cortada de uma das metades do fruto foi pressionada em uma folha de cartolina branca onde deixou uma marca que seca

rapidamente. Em torno da marca foi traçado um triângulo de forma que a marca ficou inscrita no triângulo (Figura 2). Foram analisados, por este método, cinquenta frutos no estágio maduro, de segunda ou terceira ordem, na segunda florada por parcela. Em cada triângulo foram medidas a base e a altura e a razão entre a base e a altura foi utilizada na obtenção das médias de cada cultivar. Foram estudados, nesta característica, os cultivares 'Campinas', 'Dover', 'Princesa Isabel' e 'Agf 80' pois apresentavam frutos com formato cônico ou cônico alongado.

#### 3.2.2.4 Produção, número e peso médio de frutos

Os frutos de morango de todas as parcelas foram colhidos quando estavam entre os estágios "¾ maduros" e "maduros" duas vezes por semana durante todo o período de produção. Os frutos "comerciáveis", isto é, aqueles apropriados para o consumo, foram contados e pesados. Os dados coletados foram agrupados e resultaram nas seguintes características agronômicas: produção total de frutos, número de frutos e peso médio dos frutos.

# 3.2.2.5 Teor de sólidos solúveis e pH dos frutos

Foram adicionados 100 gramas (g) de frutos maduros e 100 mililitros (ml) de água em liquidificador e triturados por três minutos a alta velocidade, seguindo o descrito por Passos (1982). Os frutos coletados eram de segunda ou terceira ordem, na época de terceira florada. Foram utilizadas, então, 100 g de frutos de cada parcela. Em cada parcela, após triturados, foram realizadas 3 medidas do pH em peagâmetro da marca Analion que resultaram nos dados de pH e três medidas no densitômetro marca Anton Paar, modelo DMA 46 que resultaram nos dados de quantidade de sólidos solúveis expressos em graus Brix.

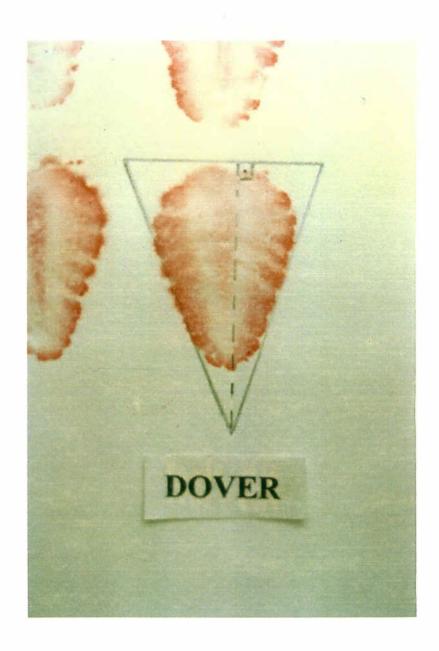


Figura 2. Foto ilustrativa da marca deixada pelo fruto do cultivar 'Dover' cortado longitudinalmente e o triângulo circunscrito respectivo.

#### 3.2.2.6 Textura dos frutos

A textura foi obtida em texturômetro TA-XT2 nas seguintes condições: os frutos foram medidos individualmente nas mesmas condições (Figura 3), determinando-se a força de resistência a compressão na condição de retorno ao início ("return to start"). A ponta de prova ("probe") utilizada foi a haste de base plana de 3 mm de diâmetro. Foram utilizadas as velocidades de perfuração de 2 mm/s na fase pré-teste, 1 mm/s na fase teste e 2 mm/s na fase pós-teste. A distância de perfuração foi padronizada em 10 mm e o resultado expresso pela força máxima (g). Para cada análise tomaram-se cinco frutos ao acaso, maduros, de segunda ou terceira ordem, na época de terceira florada, cujos dados foram reunidos em médias por parcela.

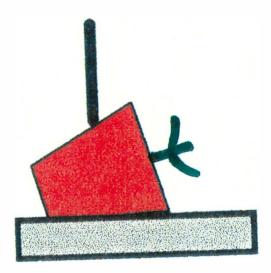


Figura 3. Esquema da posição do fruto onde foi inserida a haste de base plana.

#### 3.2.2.7 Cor externa e interna dos frutos

A cor dos frutos de morango foi quantificada em Espectrofotômetro COMCOR 1500 PLUS e os dados obtidos correspondem aos componentes analíticos L\*, a\* e b\*, segundo o descrito por Ferreira (1981) e seguindo os parâmetros estabelecidos pelo "Comission Internationale de l' Eclairage" (CIELAB), 1978. Os valores de L\* variam do claro ao escuro, sendo o valor 0 (zero) correspondente a cor branca e o valor 100 a cor preta. O componente a\* varia entre o vermelho e o verde onde os valores positivos correspondem ao vermelho, o 0 (zero) ao cinza e os valores negativos a cor verde. O componente b\* varia do azul ao amarelo onde os valores negativos correspondem ao azul, o 0 (zero) ao cinza e os valores positivos a cor amarela. Os valores de a\* e b\* foram convertidos ao índice c\* (croma), obtido da raiz quadrada de a\*2 + b\*2. A cor do fruto inteiro foi determinada com a seguinte configuração do aparelho: abertura pequena, uv (ultra violeta) excluso, brilho incluso, ângulo de 10<sup>0</sup>, leitura média de quatro determinações em cada parcela. A cor do fruto cortado foi determinado na mesma configuração, com a única diferença que a abertura utilizada foi a normal. Os frutos foram cortados longitudinalmente e as metades arranjadas no vidro óptico, contidas pelo anel de PVC. Foram colocadas três a quatro camadas de frutos, arranjadas de modo a não deixar espaços vazios, colocando-se na mesma camada metades de frutos diferentes. Também foram realizadas quatro determinações por parcela dos experimentos com frutos maduros, de segunda ou terceira ordem, na época de terceira florada.

#### 3.2.3 Características moleculares

Os vinte e seis cultivares de morango, fornecidos pelo IAC, foram mantidos em vasos sob estufa coberta com plástico transparente e tela sombrite nas laterais. As folhas, de cada cultivar, utilizadas na caracterização molecular, foram coletadas nestes vasos. Os cultivares foram numeradas de 1 a 26 e os resultados, referentes as características moleculares, serão indicados seguindo a seguinte numeração: 1. 'Dover', 2. 'Agf 80', 3. 'Campinas', 4. 'Princesa Isabel', 5. 'Guarani', 6. 'Piedade', 7. 'Jundiai', 8. 'Cruz', 9. 'Lassen', 10. 'Dabreak', 11. 'Monte Alegre', 12. 'Obaira', 13. 'Reiko', 14. 'Dr.Morèrè', 15. 'Mantiqueira', 16. 'Sequoia', 17. 'Florida Belle', 18. 'Fern', 19. 'Selva', 20. 'Korona', 21. 'Oso Grande', 22. 'Toyonoka', 23. 'Chandler', 24. 'Pajaro', 25. 'Blackmore' e 26. 'Seascape'.

### 3.2.3.1 Extração do DNA

Diversos métodos para a extração do DNA das folhas de morangueiro foram testados. Desse modo, foi desenvolvido um método de extração, descrito a seguir, que se baseou nos trabalhos de Doyle & Doyle (1990); Ferreira & Grattapaglia (1996); Parent & Pagé (1995) e Davis et al. (1995).

Em cada cultivar foram coletadas uma ou duas folhas "não expandidas", isto é, folhas em crescimento que não estão completamente formadas. As folhas foram colocadas em cadinho de porcelana onde foi adicionado nitrogênio líquido. As folhas foram maceradas com pistilo até a formação de um pó bem fino. Este material foi colocado em tubo de Eppendorf em quantidades de 100 a 150 miligramas (mg) em cada tubo (fase 1). Em um dos tubos foi adicionado 650 microlitros (ul) do tampão de extração (3% CTAB, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris Hcl pH 8,0, 1%

polivinilpirrolidone) contendo 40 ul de 2-mercaptoetanol adicionado imediatamente antes do uso. Os tubos restantes, com material extraído, foram armazenados em freezer a temperatura de -70 °C (fase 2). Os tubos foram incubados em banho maria a 60-65 °C por 30 minutos. Durante a incubação, os tubos foram agitados a cada 10 minutos para homogeneizar a suspensão (fase 3). Após a incubação foi adicionado 650 ul de solução de clorofórmio-alcool isoamílico (24:1), agitando-se os tubos a cada 5 minutos e invertendo-os até formar uma emulsão homogênea (fase 4). Os tubos foram centrifugados a 13000 rpm (rotações por minuto) durante 10 minutos. Os mesmos foram retirados cuidadosamente e a face superior foi pipetada para outro tubo (fase 5). Neste mesmo tubo foram repetidas as fases 4 e 5 (fase 6). A próxima fase foi a adição de 150 ul de solução de acetato de amônia 5M e, em seguida, adicionou-se um volume grande de etanol 96 °GL a temperatura de -20 °C (aproximadamente 800 a 1000 ul) suficiente para ocorrer a precipitação dos ácidos nucleicos no fundo do tubo (fase 7). O tubo de Eppendorf foi invertido tomando-se o cuidado necessário para não escorrer para fora o "pellet" (ácidos nucleicos) e mantido nesta posição por aproximadamente 20 minutos, até evaporar o etanol (fase 8). Foram realizadas duas lavagens dos ácidos nucleicos adicionando, em cada uma delas, 300 ul de etanol 70%. O tubo foi invertido e aguardado o tempo necessário para que o "pellet" e o tubo ficassem completamente secos (fase 9). O "pellet" foi ressuspendido, dependendo do tamanho, em 50 a 100 ul de tampão TE (10 mM Tris HCl pH 8,0 e 1,0 mM EDTA), até ficar completamente dissolvido (fase 10).

A etapa seguinte foi o tratamento com RNAse (enzima que elimina o ácido ribonucleico). Adicionou-se aos tubos 2 ul de solução de RNAse (10 ug/ml) para cada 100 ml de solução de TE contendo os ácidos nucleicos. Em seguida os tubos foram incubados a 37 °C por uma hora para a digestão do RNA (fase 11).

A etapa seguinte foi a eliminação da RNAse. Para isso foi necessária nova extração com clorofórmio-alcool isoamílico (24:1), outra precipitação, agora sim de DNA (ácido desoxirribonucleico) puro, com etanol e ressuspensão em TE. Desse modo, esta fase compreende na repetição das fases 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10 (fase 12).

### 3.2.3.2 Quantificação do DNA

As amostras de DNA foram quantificadas por espectrofotometria em aparelho GENE-QUANT Pharmacia.

#### 3.2.3.3 Análise de RAPD

As amplificações foram feitas em volume de 25 ul contendo 20 mM de Tris Hcl pH 8,4, 50 mM de KCl, 100 uM de cada um dos 4 desoxinucleotídeos, 20 ng de "primer" (10 pares de bases), 0,1% Triton X-100, 1,8 mM de MgCl<sub>2</sub>, 25 ng de DNA, 1,5 U da enzima Taq DNA Polimerase e 8,6 ul de água Milli Q estéril.

A reação de amplificação foi feita em termociclador PTC-100 da M. J. RESEARCH INC. A escolha do programa baseou-se nos trabalhos de Levi et al. (1993) e Parent & Pagé (1995) e nos resultados obtidos em testes realizados com a finalidade de determinar o programa que resultava em melhor amplificação e alta repetibilidade. O aumento da temperatura na fase de anelamento para 42 °C, proposta por Levi et al. (1993) foi a principal modificação para se obterem dados com alta repetibilidade. O programa inicia-se com uma pré-denaturação a 92 °C, por 2 minutos, seguida de 45 ciclos de 45 segundos a 94°C, 1 minuto a 42 °C e 2 minutos a 72 °C, com uma extensão final de 2 minutos a 72 °C.

Os fragmentos amplificados foram separados em gel de agarose 1,6 % em tampão TBE (50 mM de Trisma base, 50 mM de ácido bórico e 2,5 mm de EDTA sódico) a uma corrente elétrica de 100 mA. O gel foi corado com brometo de etídeo (10 ug/ml de água deionizada) por 20 minutos, descorado em água corrente por 40 minutos e fotografado com filme polaroide 667 com filtro laranja em transiluminador de ultra violeta Macro Vue de 302 nm.

#### 3.2.3.4 "Primers" utilizados

Foram utilizados neste trabalho os "primers" da Operon Technologies B 6 (TGCTCTGCCC), B 19 (ACCCCCGAAG), B 8 (GTCCACACGG), G 5 (CTGAGACGGA) e G 11 (TGCCCGTCGT). Cada "primer" foi testado isoladamente com os vinte e seis cultivares. Para maior confirmação de repetibilidade dos resultados foram realizadas duas extrações de plantas diferentes de cada cultivar que foram testados com o "primer" B 8 e cada "primer" escolhido foi testado por duas vezes com os vinte e seis cultivares.

A estimativa dos pesos moleculares dos fragmentos amplificados, utilizados como "marcadores", expressos em número de pares de bases, foi medida diretamente nas fotografias das eletroforeses por comparação com o padrão de peso molecular 100 bpa DNA ladder. A estimativa foi feita no software DNAFRAG (Schaffer & Sederoff, 1981). Para a identificação dos vinte e seis cultivares foram utilizados os "marcadores" descritos a seguir: B8B = "primer" B 8 e banda de 1793 pb, B8G = "primer" B 8 e banda de 886 pb, B8I = "primer" B 8 e banda de 752 pb, B8J = "primer" B 8 e banda de 657 pb, B8L = "primer" B 8 e banda de 593 pb, B8O = "primer" B 8 e banda de 468 pb, B19E = "primer" B 19 e banda de 1255 pb, B19F = "primer" B 19 e banda de 1179 pb, B19I = "primer" B 19 e banda de 1062 pb, B19J = "primer" B 19 e banda de 1028 pb, B19L = "primer" B 19 e banda de 990 pb, B19M = "primer" B 19 e banda de 944 pb, B19P = "primer" B 19 e banda de 855 pb, B19R = "primer" B 19 e banda de 763 pb, B19V = "primer" B 19 e banda de 564 pb, B19W = "primer" B 19 e banda de 522 pb, G5A = "primer" G 5 e banda de 976 pb, G5C = "primer" G 5 e banda de 899 pb, G5D = "primer" G 5 e banda de 843 pb e G5N = "primer" G 5 e banda de 264 pb.

#### 3.2.5 Métodos de análise dos dados

A análise dos dados morfológicos e agronômicos foram realizadas com base em Steel & Torrie (1960), com o software SANEST. Foram utilizadas na análise a média das parcelas e as diferenças entre as médias dos tratamentos foram comparadas através do teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

A análise dos dados moleculares foi baseada na presença ou ausência de bandas (1 ou 0 respectivamente) com o mesmo peso molecular. A partir dos géis obtidos foram construídas matrizes binárias. Os dados qualitativos e quantitativos obtidos da análise das características morfológicas e agronômicas foram transformados em matrizes binárias conforme o proposto por Bussab et al. (1990). Valores numéricos compostos por uma trinca de zeros e ou uns foram atribuídas as características qualitativas. Uma determinada característica qualitativa apresentava três opções. Quando se verificava a presença de uma das opções em 95% das amostras analisadas em um cultivar, esta característica obtinha o valor 100. Caso fosse verificado 95% das amostras com a segunda opção, esta obtinha o valor 010 e quando era observada a terceira opção era dado o valor 001. Se duas das opções estavam presentes e nenhuma atingia 95% das amostras, o valor indicado era 110 se fosse a primeira e a segunda opção e 011 se fosse a segunda e a terceira (Tabela 1, Apêndice). Exemplificando com a característica de grau de proteção da inflorescência pelas folhas, atribuiu-se o valor de 100 para inflorescência pouco protegida pelas folhas, 010 para inflorescências regularmente protegidas e 001 para inflorescências muito protegidas. A decisão de determinar a presença de uma determinada característica quando existe a presença em 95% do material amostrado foi baseado nos trabalhos conduzidos por Queiroz-Voltan et al. (1996). Nas características quantitativas foram feitas faixas de valores e, para cada faixa foi atribuída uma quantidade de zeros e uns sendo que em valores maiores eram atribuídos mais uns e valores menores eram atribuídos mais zeros (Tabela 2, Apêndice).

A partir das matrizes binárias, formaram-se as matrizes de coeficientes de similaridade pelo método da similaridade qualitativa com o coeficiente de combinações simples ou "Simple Matting" (SM) e com o coeficiente de Jaccard (J). Para a formação dos dendogramas, as matrizes de coeficientes de similaridade foram analisadas pelo método do desempenho sequencial de aglomeração hierárquica de grupos ("Sahn Clustering"), com o coeficiente do método do agrupamento pareado sem peso com significado aritmético (UPGMA). As análises citadas acima foram feitas pelo programa NTSYS-pc, versão 1.70 (Rolph, 1992).

Segundo Camargo & Passos (1993), no morango cultivado existe muita interação entre os tipos de ação gênica (aditiva, dominante e epistática), sendo dificil determinar qual delas está presente. Assim, a estimativa da herdabilidade foi realizada no sentido amplo através da razão entre a variância genética e a variância fenotípica pois para o estudo no sentido restrito (variância genética aditiva / variância fenotípica) seria necessário estimar a variância genética aditiva.

As análises de correlações entre as características foram determinadas pelo coeficiente r, dado pela fórmula: r = covariânica(x), covariância (y) / covariância (xy).

# 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados levantados nos experimentos de Atibaia e Piracicaba forneceram informações importantes para caracterizar os cultivares 'Campinas', 'Dover', 'Guarani', 'Princesa Isabel' e 'Agf 80', que representam a quase totalidade do material cultivado de morango do Brasil. Os resultados dos experimentos, embora obtidos separadamente, podem ser analisados em conjunto, pois a relação entre os quadrados médios dos resíduos dos dois experimentos foi menor que sete para todas as características estudadas (Cruz & Regazzi, 1994).

Com os dados moleculares nos vinte e seis cultivares estudados, foi organizada uma chave dicotômica, um quadro para a identificação dos cultivares e um dendograma que permitiu determinar o grau de similaridade entre os cultivares estudados. Estes dados podem ser úteis para o controle na importação de cultivares e escolha de materiais em programas de melhoramento. Os dados de herdabilidade e correlação entre características ajudam a identificar as melhores para diferenciar os cultivares e aquelas que podem ser úteis em trabalhos de melhoramento. Os resultados das características agronômicas podem dar subsídios para o uso em horticultura e no melhoramento genético.

# 4.1 Características morfológicas

Algumas características da planta do morangueiro, das folhas, das flores e dos frutos podem apresentar diferenças contribuindo na identificação dos cultivares. Neste trabalho foram estudadas algumas destas características com a finalidade de caracterizar os cultivares 'Campinas', 'Dover', 'Guarani', 'Princesa Isabel' e 'Agf 80' e determinar as mais adequadas para identificar os cultivares do morango.

#### 4.1.1 Forma dos dentes do folíolo

Esta característica não apresentou variação entre os cultivares pois todos apresentaram a forma intermediária (Figura 4). Queiroz-Voltan et al. (1996) também trabalhou com os cultivares 'Campinas', 'Agf 80', 'Guarani' e 'Princesa Isabel' e considerou todos estes cultivares com o formato do folíolo mediano de intermediários a arredondados. Esta característica apresenta duas desvantagens para a caracterização dos cultivares. A primeira desvantagem é a pouca variação que apresenta entre os cultivares e a segunda é a dificil definição da forma intermediária. Lemaitre & Linden (1968) também consideram a forma dos dentes do folíolo uma característica inadequada para a separação de cultivares.

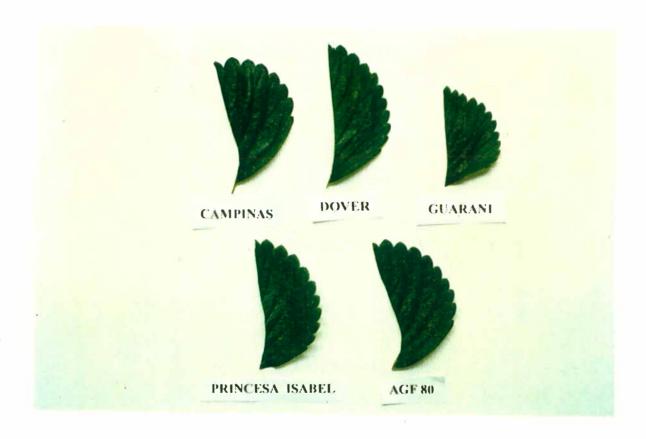


Figura 4. Forma dos dentes do folíolo nos cinco cultivares estudados

#### 4.1.2 Cor da folha

Os cultivares apresentaram cor de folhas diferentes. Os cultivares, isoladamente, apresentaram as mesmas cores de folha em Atibaia e Piracicaba. Os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' apresentaram cor de folha verde escura. Os cultivares 'Dover' e 'Princesa Isabel' apresentaram folhas com a coloração verde média e verde escura e o cultivar 'Guarani' apresentou folhas com a coloração verde clara e verde média (Tabela 1)

Tabela 1. Número de folhas que apresentam as cores verde clara, verde média e verde escura do folíolo mediano, obtido em 200 amostras e cinco cultivares. Atibaia e Piracicaba, 1996.

Cultivares		Atibaia			Piracicaba	_
	verde clara	verde média	verde escura	verde clara	verde média	verde escura
Campinas	0	0	200	0	0	200
Dover	6	168	26	4	180	16
Guarani	106	90	4	138	61	1
Princesa Isabel	9	137	64	0	109	91
Agf 80	0	0	200	0	0	200

O cultivar é caracterizado pela presença ou ausência de determinada estrutura se esta estiver presente em 95% da amostra.

Queiroz-Voltan et al. (1996) também caracterizaram os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' como de coloração verde escura. Estes autores caracterizaram o cultivar 'Guarani' pela cor verde clara das folhas e o cultivar 'Princesa Isabel' pela coloração verde escura. Camargo & Passos (1993) também caracterizaram 'Campinas' pela coloração verde escura das folhas, 'Guarani' pela coloração verde clara e 'Princesa Isabel' de coloração verde média. Estes resultados diferentes obtidos para esta característica, quando comparados com o trabalho de Queiroz-Voltan et al. (1996), reforçam a opinião destes autores e de Lemaitre & Linden (1968) que esta característica esta muito sujeita a variação ambiental. Por estas razões não pode ser considerada uma característica adequada para a caracterização dos cultivares.

# 4.1.3 Ângulo da base do folíolo

O ângulo da base do folíolo mediano é aguda, intermediária ou arredondada, segundo Passos et al. (1994). Lemaitre & Linden (1968) elaboraram uma maneira de transformar esta característica em valores numéricos através da medida do ângulo da base do folíolo em graus, método adotado neste trabalho.

Os valores obtidos do ângulo da base do folíolo mostraram valores diferentes para os cultivares 'Campinas', 'Agf 80' e 'Guarani' em relação a 'Dover' e 'Princesa Isabel' e as últimas diferentes entre si. 'Dover' apresentou o menor ângulo (95,72°), em seguida, com um ângulo maior o cultivar 'Princesa Isabel' (109,44°) e com os maiores valores da característica ângulo da base do folíolo e com valores semelhantes ficaram os cultivares 'Campinas' (121,87°), 'Agf 80' (123,33°) e 'Guarani' com 121,35° (Tabela 2 e Figura 5). Não houve variação entre locais.

Queiroz-Voltan et al. (1996) obteve dados desta característica em quatro dos cinco cultivares testados neste trabalho e os resultados foram semelhantes. Estes autores determinaram o ângulo da base nos períodos posterior e anterior a floração e

chegaram aos valores médios de 120,69 ° para o cultivar 'Campinas' e 122,05 ° para 'Agf 80' no período posterior a floração, muito próximos dos resultados deste trabalho. Os cultivares 'Princesa Isabel' e 'Guarani' apresentaram os valores de 101,91 ° e 124,05 ° respectivamente para o período posterior a floração, também semelhantes aos obtidos neste trabalho.

Esta característica apresentou valores elevados de herdabilidade em Atibaia (98,0 %) e em Piracicaba (99,1%) demonstrando ser interessante para a caracterização de cultivares, confirmando a opinião de Lemaitre & Linden (1968).

### 4.1.4 Razão entre o comprimento e a largura do folíolo

O formato do folíolo, segundo Passos et al. (1994), é arredondado, elíptico ou muito alongado. Lemaitre & Linden (1968) estabeleceram, através da relação entre o maior comprimento do folíolo com a maior largura, um parâmetro para estimar, por valores numéricos, o formato do folíolo do morangueiro.

Os resultados obtidos com esta característica permitiram distinguir os cultivares 'Dover' e 'Princesa Isabel' entre si e dos demais cultivares. O cultivar 'Dover' apresentou o maior valor da relação (1,23), demonstrando ser o que tem o formato que lembra uma elipse. O cultivar 'Princesa Isabel' apresentou o valor de 1,00, menor que as de 'Dover' mas maiores que as demais, o que caracteriza um formato intermediário entre uma elipse e um círculo. Os cultivares 'Campinas', 'Agf 80' e 'Guarani' apresentaram valores próximos a um, caracterizando um formato arredondado (Tabela 3 e Figura 5). Os resultados dos experimentos de Atibaia e Piracicaba foram semelhantes a análise conjunta. Camargo & Passos (1993) caracterizaram o formato dos folíolos de 'Campinas' como arredondado e o de 'Princesa Isabel' como tendendo ao elíptico. Dados semelhantes foram obtidos por Queiroz-Voltan et al. (1996), no período pós floração, com o cultivar 'Guarani' que obteve o valor de 1,00 na relação entre comprimento e largura e com os cultivares 'Campinas' (1,04), 'Agf 80' (1,03) e 'Princesa Isabel' (1,20).

Tabela 2. Ângulo (em graus) da base do limbo do folíolo mediano, média de 200 amostras em Atibaia e Piracicaba e análise conjunta dos experimentos, 1996.

Cultivares	Atibaia	Piracicaba	Análise conjunta
Campinas	122,14 <sup>a</sup>	121,59 <sup>a</sup>	121,87 <sup>a</sup>
Dover	94,61 <sup>c</sup>	96,83 <sup>c</sup>	95,72 <sup>c</sup>
Guarani	121,35 <sup>a</sup>	121,05 <sup>a</sup>	121,20 <sup>a</sup>
Princesa Isabel	109,16 <sup>b</sup>	109,73 b	109,44 <sup>b</sup>
Agf 80	123,33 <sup>a</sup>	124,24 <sup>a</sup>	123,78 <sup>a</sup>
DMS (5%)	7,81942	4,72871	4,25742
CV %	3,039	1,828	2,571

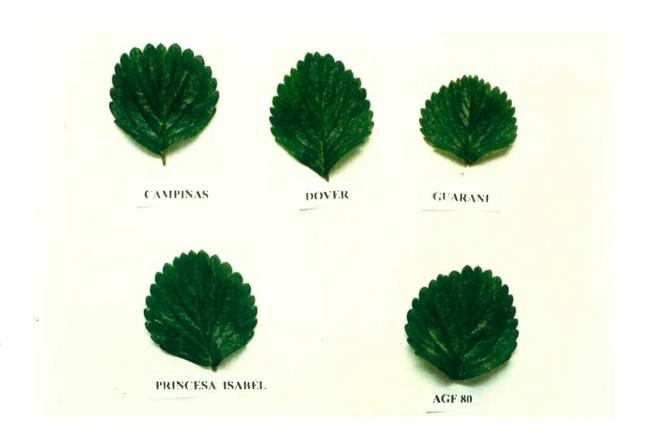


Figura 5. Aspecto do folíolo mediano nos cinco cultivares estudados. Nota-se o ângulo da base e as diferentes formas do folíolo mediano.

O valor da herdabilidade no experimento de Atibaia (99,7 %) e no de Piracicaba (99,4 %) indica característica com pouca influência ambiental, o que a torna uma das melhores para a caracterização de cultivares, concordando com os trabalhos de Lemaitre & Linden (1968) que também consideram esta característica um importante mecanismo de separação de cultivares.

Tabela 3. Medidas de razão entre o comprimento e a largura do limbo do folíolo mediano, média de 200 amostras, em Atibaia e Piracicaba e análise conjunta dos experimentos, 1996.

Cultivares	Atibaia	Piracicaba	Análise conjunta
Campinas	0,975 <sup>cd</sup>	0,973 <sup>c</sup>	0,974 <sup>cd</sup>
Dover	1,242 <sup>a</sup>	1,211 <sup>a</sup>	1,226 <sup>a</sup>
Guarani	0,997 <sup>c</sup>	0,999 <sup>c</sup>	0,998 <sup>c</sup>
Princesa Isabel	1,089 b	1,111 <sup>b</sup>	1,100 b
Agf 80	0,964 <sup>d</sup>	0,974 <sup>c</sup>	0,969 <sup>d</sup>
DMS (5%)	0,02719	0,03413	0,02404
CV %	1,144	1,436	1,577

## 4.1.5 Posição da inflorescência em relação a folhagem.

Esta característica separa o cultivar 'Dover' dos demais, pois este apresenta inflorescência acima e abaixo da folhagem e os demais abaixo da folhagem. Queiroz-Voltan et al. (1996) também definiram 'Campinas', 'Agf 80', 'Guarani' e 'Princesa Isabel' com a característica de inflorescência abaixo da folhagem. Os mesmos autores explicam que alguns cultivares que possuem a característica de emitir flores acima e abaixo da folhagem na verdade emitem as flores primárias acima e as secundárias, terciárias, quaternárias e quinquenárias abaixo da folhagem. O cultivar 'Dover' também mostrou esta característica (Figuras 6,7, 8, 9 e 10).

### 4.1.6 Tamanho do cálice em relação ao fruto

Segundo Passos et al. (1994), o tamanho do cálice em relação ao fruto no estágio maduro pode ser pequeno, médio ou grande, denominação seguida neste trabalho. A mesma característica é descrita por Lemaitre & Linden (1968) em outro estágio de desenvolvimento da flor, onde estes autores consideram o tamanho relativo do cálice em relação a corola e dão duas alternativas, maior ou menor.

Os cultivares 'Campinas', 'Agf 80' e 'Guarani' apresentam tamanhos pequeno e médio do cálice em relação ao fruto, enquanto que 'Dover' e 'Princesa Isabel' apresentaram tamanhos médio e grande. Segundo Queiroz-Voltan<sup>4</sup> esta característica fica mais bem definida se for analisado o tamanho relativo do cálice em relação a corola, já que dessa maneira poderiam ser usados valores quantitativos para definir esta característica (Tabela 4)

-

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> QUEIROZ-VOLTAN, R. B.(Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, SP). Comunicação pessoal, 1996.

Tabela 4. Número de plantas apresentando os tamanhos relativos do cálice pequeno, médio ou grande em relação ao tamanho do fruto em 200 amostras e cinco cultivares. Piracicaba e Atibaia, 1996.

Cultivares		Atibaia			Piracicaba	
	pequeno	médio	grande	pequeno	médio	grande
Campinas	88	122	0	43	155	2
Dover	0	179	21	0	120	80
Guarani	63	137	4	28	171	1
Princesa Isabel	0	92	108	0	55	145
Agf 80	103	97	0	62	138	0

O cultivar é caracterizado pela presença ou ausência de determinada estrutura se esta estiver presente em 95% da amostra.

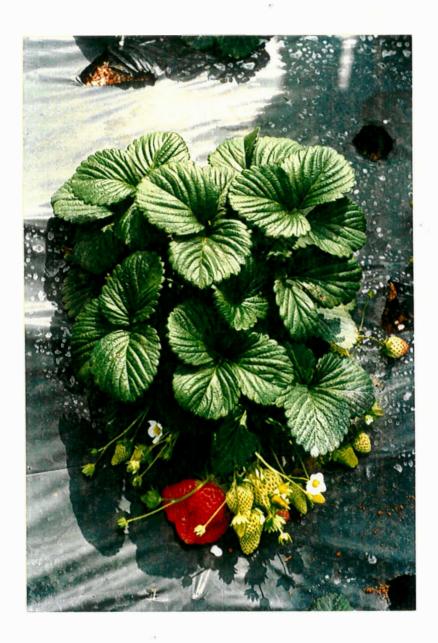


Figura 6. Planta do cultivar 'Campinas' em fase de segunda florada.

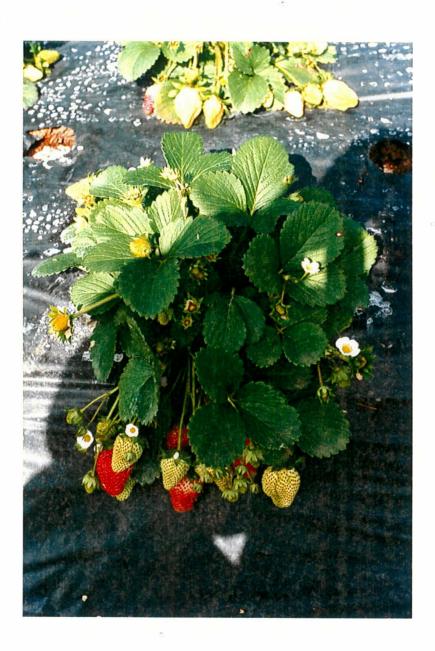


Figura 7. Planta do cultivar 'Dover' em fase de segunda florada.



Figura 8. Planta do cultivar 'Guarani' em fase de segunda florada.



Figura 9. Planta do cultivar 'Princesa Isabel' em fase de segunda florada.



Figura 10. Planta do cultivar 'Agf 80' em fase de segunda florada.

#### 4.1.7 Cor de fruto imaturo

Esta característica apresentou muita dificuldade na determinação devido a dificil distinção entre as cores branco, verde claro e verde médio. Os resultados mostraram um comportamento diferente dos cultivares nas cidades de Atibaia e Piracicaba. Em Atibaia os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' apresentaram as cores verde claro e verde médio; 'Dover' e 'Princesa Isabel' variaram de branco a verde claro e 'Guarani' apresentou as cores branco, verde claro e verde médio. Em Piracicaba, 'Campinas' e 'Agf 80' apresentaram as cores verde claro e verde médio; 'Guarani' as cores verde claro e verde médio; 'Dover' apresentou a cor verde claro; 'Guarani' as cores verde claro e verde médio e 'Princesa Isabel' as cores branco e verde claro (Tabela 5 e Figura 11). Camargo & Passos (1993) caracterizaram o cultivar 'Princesa Isabel' pela coloração branca dos frutos, quando imaturos. Apesar de ser esta uma característica importante para separar o cultivar 'Princesa Isabel', devido a dificil determinação, não demonstra ser uma característica útil para distinguir cultivares.

Tabela 5. Número de frutos imaturos apresentando as cores branco, verde claro e verde médio em 200 amostras e cinco cultivares. Piracicaba e Atibaia, 1996.

Cultivares		Atibaia			Piracicaba	
	branco	verde claro	verde médio	branco	verde claro	verde médio
Campinas	0	164	36	0	115	85
Dover	22	178	0	2	194	4
Guarani	26	150	24	8	123	59
Princesa Isabel	125	75	0	64	136	0
Agf 80	0	188	12	0	152	48

O cultivar é caracterizado pela presença ou ausência de determinada estrutura se esta estiver presente em 95% da amostra.

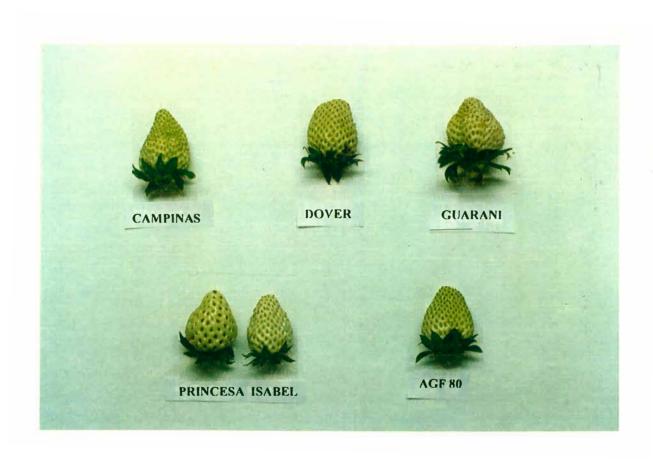


Figura 11. Frutos imaturos de segunda ou terceira ordem colhidos em época de segunda florada, dos cinco cultivares.

## 4.2 Características agronômicas

A análise das características de interesse agronômico demonstrou que pequenas diferenças na fisiologia da planta e na morfologia da planta e do fruto resultam em alterações que podem alterar a rentabilidade final da produção comercial do morango. Alterações apresentadas nos frutos quanto a produção, formato, tamanho, teor de sólidos solúveis, pH, cor e textura influem na escolha, pelo produtor, da finalidade de uso dos cultivares, do sistema de produção e da região produtora e, aquele que escolher o cultivar que possuir a melhor combinação das características de interesse agronômico, possivelmente obterá o melhor resultado.

### 4.2.1 Grau de proteção das inflorescências pelas folhas

A vantagem de uma planta possuir inflorescência muito protegida pelas folhas é a maior resistência a geada, no entanto a colheita, nestes casos, é prejudicada e estas plantas apresentam um maior apodrecimento de frutos, principalmente quando localizadas em áreas de baixada úmida. (Camargo, 1968a). Em regiões de pouca ocorrência de geada é recomendado cultivares com inflorescência pouco protegidas pelas folhas pois a operação de colheita é mais rápida.

Esta característica distingue 'Guarani', que possui inflorescências regularmente protegidas pelas folhas dos demais cultivares que possuem inflorescências pouco protegidas pelas folhas. Camargo & Passos (1993) também consideram 'Guarani' com inflorescência regularmente protegida pelas folhas e 'Campinas' e 'Princesa Isabel' com inflorescências pouco protegidas pelas folhas (Tabela 6 e Figuras 6, 7, 8, 9 e 10).

Tabela 6. Número de plantas com inflorescências pouco, regularmente ou muito protegidas pelas folhas em 64 plantas e cinco cultivares. Piracicaba e Atibaia, 1996.

Cultivares	Atibaia				Piracicaba		
	pouco	regularmente	muito	pouco	regularmente	muito	
Campinas	64	0	0	64	0	0	
Dover	64	0	0	64	0	0	
Guarani	1	63	0	0	64	0	
Princesa Isabel	64	0	0	64	0	0	
Agf 80	64	0	0	64	0	0	

O cultivar é caracterizado pela presença ou ausência de determinada estrutura se esta estiver presente em 95% da amostra

## 4.2.2 Presença de "pescoço"

O fruto do morangueiro pode apresentar um prolongamento afunilado na base semelhante a um "pescoço". O trabalho de Passos et al. (1994) considera a presença ou ausência do "pescoço" como característica dos cultivares. Passos (1982) relaciona esta característica com a aderência maior ou menor do cálice ao fruto e a define por facilidade de remoção do cálice ou facilidade de "capping". Lemaitre & Linden (1968) não reconhecem esta característica e sim definem três formas para a base do fruto: côncava, convexa e plana. Na verdade, a presença ou ausência de "pescoço" é uma característica de grande valor agronômico porque esta relacionada a facilidade de remoção do cálice. Frutos com presença de "pescoço" tem o cálice removido

rapidamente, facilitando o trabalho na industrialização do morango, porém frutos sem "pescoço" dificilmente soltam o cálice na operação de colheita, o que é importante pois frutos "in natura" só são aceitos pelo consumidor quando comercializados com o cálice.

Os cultivares 'Guarani' e 'Dover' foram caracterizados pela ausência ou presença desta característica, sendo ausência de "pescoço" em 'Dover' e presença de "pescoço" em 'Guarani'. Os cultivares 'Campinas', 'Agf 80' e 'Princesa Isabel' não apresentaram frutos em quantidade suficiente para definir em qual das duas categorias pertenciam. Camargo & Passos (1993) caracterizaram o cultivar 'Guarani' pela presença desta característica. Os resultados deste trabalho, concordantes com estes autores, já eram esperados afinal esta é uma característica de morango industrial pois facilita a remoção do cálice e o cultivar 'Guarani' foi selecionado com esta finalidade conforme descrito por estes autores. Camargo & Passos (1993) descrevem o cultivar 'Campinas' com a característica de presença de "pescoço", o que não foi comprovado neste trabalho. Estes autores também descrevem o cultivar 'Princesa Isabel' por possuir frutos geralmente com "pescoço", conferindo com os resultados obtidos neste trabalho onde 41,7 % dos frutos amostrados deste cultivar apresentavam "pescoço" (Tabela 7 e Figura 12).

Estes resultados mostram que esta característica pode ser notada com facilidade em cultivares como 'Guarani' onde o "pescoço" é bem pronunciado. Apesar da dificuldade na determinação exata, esta característica é muito importante na caracterização de cultivares graças a importância agronômica associada a ela.

Tabela 7. Número de frutos com presença ou ausência de "pescoço" em 200 amostras de frutos de cinco cultivares. Atibaia e Piracicaba, 1996.

Cultivares	Atibaia		Pirac	icaba
	presença	ausência	presença	ausência
Campinas	150	50	119	81
Dover	0	200	0	200
Guarani	193	7	198	2
Princesa Isabel	94	106	73	127
Agf 80	154	46	162	38

O cultivar é caracterizado pela presença ou ausência de determinada estrutura se esta estiver presente em 95% da amostra

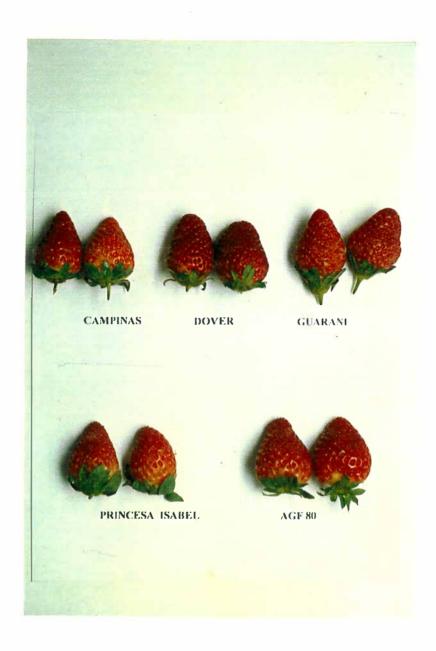


Figura 12. Frutos inteiros dos cinco cultivares onde visualiza-se a forma dos frutos, a cor externa dos frutos e a ocorrência de "pescoço".

#### 4.2.3 Formato do fruto

A forma do fruto do morangueiro é de fundamental importância para o sucesso dos cultivares devido às exigências do mercado consumidor. No entanto, é característica de dificil identificação, pois a análise é comparativa com formatos padrões estabelecidos de maneira diferente, por vários autores. Passos (1982) baseou-se no trabalho de Darrow & Valdo, citado por Camargo (1960) que definiu as formas oblonga, globosa, cônica-globosa, cônica, cônica alongada, com pescoco, ápice curto e ápice longo (Figura 13). O trabalho de Passos et al. (1994) definiu as formas oval, cônica, elíptica, globosa, cônico-globosa, cônico-alongada e reniforme e Lemaitre & Linden (1968) e Queiroz-Voltan et al. (1996) consideram as formas ovóide, elipsoidal, globulosa, reniforme e cônica. Diante da dúvida de qual dos três sistemas utilizar e, aliado ao fato de que quatro das cinco cultivares estudados apresentavam formato muito semelhante, tipo cônico ou cônico-alongado, decidimos propor um novo sistema para distinguir frutos de morango com formato tipo cônico. O formato do fruto foi estabelecido pela relação entre a base e a altura do triângulo circunscrito no fruto e demonstrou ser uma boa característica para a distinção dos cultivares. Foram analisados os quatro cultivares que apresentavam frutos no formato cônico a cônico alongado, ou seja, não poderiam ser distinguidos pela característica formato de fruto. Assim, os cultivares 'Campinas', 'Dover', 'Princesa Isabel' e 'Agf 80' foram analisados para esta característica, pois segundo Camargo & Passos (1993) o cultivar 'Guarani' apresenta formato cônico a oval. A estimativa quantitativa do formato do fruto poderá contribuir para trabalhos de padronização de tamanho dos frutos e consequentemente de embalagens.

Na análise conjunta dos experimentos, os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' não apresentaram diferenças significativas entre si mas diferiram de 'Dover' e 'Princesa Isabel'. Os cultivares 'Campinas' e Agf 80 apresentaram a maior relação entre a base e a altura do fruto, o que caracteriza um formato de fruto pouco alongado, assemelhando-se

a um "pião". Com valores menores ficou o cultivar 'Princesa Isabel' e com os valores mais baixos o cultivar 'Dover', o que significa frutos com o formato mais cônico alongado entre os quatro cultivares testados. Resultados semelhantes foram obtidos nos experimentos de Atibaia e Piracicaba (Tabela 8 e Figura 12). Esta característica apresentou um valor de herdabilidade de 99,8 % no experimento de Atibaia e 99,7 % no experimento de Piracicaba, demonstrando que tem pouca influência ambiental e assim útil na separação de cultivares.

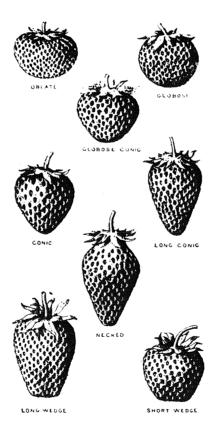


Figura 13. Forma dos frutos de morango, segundo o definido por Darrow & Valdo, citado por Camargo (1960).

Tabela 8. Razão entre a base e a altura do triângulo circunscrito no fruto, média de 200 amostras, em Atibaia e Piracicaba e análise conjunta dos experimentos, 1996.

Cultivares	Atibaia	Piracicaba	Análise conjunta
Campinas	0,945 <sup>a</sup>	0,938 <sup>a</sup>	0,942 <sup>a</sup>
Dover	0,658 <sup>c</sup>	0,646 <sup>c</sup>	0,652 <sup>c</sup>
Princesa Isabel	0,838 <sup>b</sup>	0,837 <sup>b</sup>	0,838 <sup>b</sup>
Agf 80	0,940 <sup>a</sup>	0,947 <sup>a</sup>	0,944 <sup>a</sup>
DMS (5%)	0,03812	0,03097	0,02234
CV %	2,041	1,664	1,920

### 4.2.4 Produção de frutos

Os frutos do morangueiro, na época da colheita, podem apresentar podridões, desenvolvimento e amadurecimento incompletos e danos causados por percevejos e insetos. Estes frutos não são aproveitados para a comercialização, causando prejuízos ao agricultor. Passos (1982); Passos (1997); Tessaroli Neto (1982) e Tessaroli Neto (1993) consideram estes frutos "não comerciáveis" e os demais "comerciáveis". Para o estudo da produção em peso de frutos e seus componentes número de frutos e peso médio dos frutos, foram pesados e contados os frutos "comerciáveis".

Neste trabalho a produção foi estimada pelo peso médio de frutos obtidos em parcelas de dezesseis plantas. A produção de frutos do morangueiro apresentou variação significativa entre os cultivares, com comportamento diferente das mesmas nas cidades de Atibaia e Piracicaba e uma variação entre locais significativa. Em Atibaia a produção total de frutos não apresentou variação significativa entre os cultivares testados, no entanto podemos citar a produção total dos cultivares 'Guarani' (496,87 g/planta) e do cultivar 'Campinas' (494,02 g/planta), que foram os que apresentaram os maiores valores (Tabela 9). Em Piracicaba os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' apresentaram as maiores produções totais de frutos (respectivamente 321,35 e 311,62 g/planta), seguidos dos cultivares 'Dover' e 'Guarani' com valores de produção respectivamente 306,34 e 263,09 g/planta mas não diferentes significativamente entre si. O cultivar 'Princesa Isabel' apresentou a menor produção (236,63 g/planta), diferindo significativamente de 'Campinas' e 'Agf 80' mas não diferindo significativamente de 'Guarani' e 'Dover' (Tabela 9).

Os resultados da análise conjunta destacaram 'Princesa Isabel' com a menor produção (315,40 g/planta) e significativamente diferente dos demais (Tabela 9). Vale ressaltar que não foi realizada estimativa da ocorrência de doenças mas, pelas análises visuais, o cultivar 'Princesa Isabel' foi o mais prejudicado, o que pode ter sido um dos motivos da menor produção de frutos deste cultivar. Tessaroli Neto (1982)

comenta que, em seu trabalho, a ocorrência da doença mancha das folhas demonstrou ser característica correlacionada negativamente com a produção.

A produção total de frutos em Atibaia deste trabalho pode ser comparada com outros experimentos com morango em ambiente sob condições de manejo e clima semelhantes. Em Atibaia, a produção total de frutos por planta, média das parcelas, do cultivar 'Campinas' foi de 494,02 g e do cultivar 'Guarani' de 496,87 g. Passos (1982) conduziu experimento em Jundiaí (SP), no ano de 1979, e obteve produção de 434,18 g/planta de frutos colhidos no estágio "3/4 maduros" do cultivar 'Campinas' e 524,97 g/planta do cultivar 'Guarani'. No ano seguinte, novamente em Jundiaí, o cultivar 'Campinas' produziu 424,37 g/planta e o cultivar 'Guarani' 529,75 g/planta. Tessaroli Neto (1982) em experimento em São Bento do Sapucaí (SP), 1979, obteve produções de 387,08 g/planta com o cultivar 'Campinas' e 520,67 g/planta com o cultivar 'Guarani'. Tessaroli Neto (1993), testou diversos tipos de cobertura de solo em morangueiro no cultivar 'Campinas' em Monte Alegre do Sul (SP) e atingiu a produção de 494,74 g/planta com a cobertura de plástico de polietileno preto aplicado 21 dias após o transplante das mudas. Passos (1997) em experimento conduzido em Atibaia com o cultivar 'Campinas', testou diversos sistemas de produção e na área com irrigação por aspersão e cobertura de solo com plástico de polietileno preto, obteve produções de 171 g/planta em 1994 e 277 g/planta em 1995. No entanto, o autor comenta que no ano de 1994 houve ocorrência de geada, prejudicando a produção precoce e em 1995 o plantio ocorreu no dia 9 de junho, tardio para a região, o que deve ter prejudicado a produção total de frutos.

Os resultados deste trabalho mostraram que o cultivar 'Dover' atinge níveis de produção elevados, semelhantes aos cultivares 'Campinas', 'Agf 80' e 'Guarani' que apresentam produção alta já comprovada em condições experimentais e em áreas de produção.

Tabela 9. Produção total de frutos (g) por planta, média de 64 plantas em Atibaia e Piracicaba e análise conjunta dos experimentos, 1996.

Cultivares	Atibaia	Piracicaba	Análise conjunta
Campinas	10.1.00 a	201 05 a	10 <b>7</b> 60 å
Campinas	494,02 <sup>a</sup>	321,35 <sup>a</sup>	407,69 <sup>a</sup>
Dover	475,57 <sup>a</sup>	306,34 <sup>ab</sup>	390,96 <sup>a</sup>
Guarani	496,87 <sup>a</sup>	263,09 <sup>ab</sup>	379,98 <sup>a</sup>
Princesa Isabel	394,18 <sup>b</sup>	236,63 <sup>b</sup>	315,40 b
Agf 80	480,90 <sup>a</sup>	311,62 <sup>a</sup>	396,26 <sup>a</sup>
DMS (5%)	112,895	72,555	61,096
CV %	10,690	11,179	11,165

Analisando a produção pelo peso de frutos produzidos mensalmente, média dos cinco cultivares, notamos que em Atibaia agosto se destacou como o mês de pico na colheita. A produção média de frutos no mês de agosto foi de 203,04 g/planta, enquanto que em julho foram produzidos 96,91 g de frutos/planta e em setembro 96,03 g/planta. A colheita teve início no final do mês de maio com uma produção de apenas 1,23 g/planta e no mês de junho a colheita já apresentou 45,04 g/planta. No mês de outubro a produção já era bem menor, atingindo 27,46 g/planta e no início de novembro finalizou com apenas alguns frutos colhidos resultando no valor médio de 0,56 g/planta (Tabela 10 e Figura 14).

Tessaroli Neto (1993) também descreve as produções mensais de frutos obtidas com o cultivar 'Campinas', sob plástico de polietileno preto aplicado 21 dias após o transplante, onde obteve a seguinte produção mensal: 26,66 g/planta em junho, 67,30 g/planta em julho, 103,70 g/planta em agosto, 123,28 g/planta em setembro, 98,56 g/planta em outubro e 75,23 g/planta em novembro. Neste trabalho, em Atibaia, o cultivar 'Campinas' mostrou picos de produção maiores: 1,73 g/planta em maio, 48,55 g/planta em junho, 103,58 g/planta em julho, 209,08 g/planta em agosto, 99,78 g/planta em setembro e 31,28 g/planta em outubro (Figura 15).

Em Piracicaba houve um pico de produção em setembro e os meses com as menores produções foram junho e novembro (Tabela 10 e Figura 14).

Os resultados da produção total de frutos mostraram uma produção média dos cinco cultivares em Atibaia (468,30 g/planta) significativamente maior que em Piracicaba (287,81 g/planta). No entanto, as diferenças notadas entre os experimentos de Atibaia e Piracicaba não podem ser devidas somente ao clima já que os fatores tipo de solo, época de plantio, tipo de muda e equipamento de pulverização foram diferentes nos experimentos, detalhados no ítem 3.2..

Tabela 10. Produção mensal de frutos (g) por planta, média de todas as plantas em Atibaia e Piracicaba, 1996.

Meses	Atibaia	Piracicaba
maio	1 22 <sup>e</sup>	0
junho	1,23 <sup>e</sup> 45,04 <sup>c</sup>	9,62 e
julho	96,91 <sup>b</sup>	58,32 <sup>c</sup>
agosto	203,04 <sup>a</sup>	71,38 <sup>b</sup>
setembro	94,03 <sup>b</sup>	95,06 <sup>a</sup>
outubro	27,46 <sup>d</sup>	44,85 <sup>d</sup>
novembro	0,56 <sup>e</sup>	44,85 <sup>d</sup> 9,46 <sup>e</sup>
DMS (5%)	10,695	8,102
CV (%)	16,878	18,414

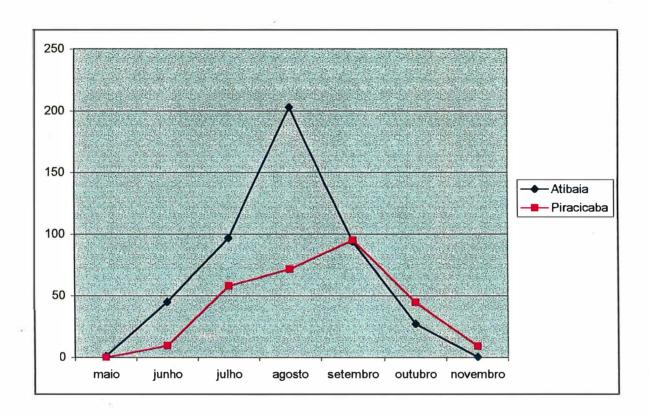
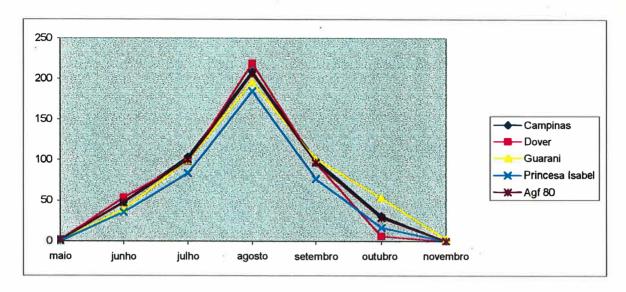


Figura 14. Produção de frutos (g/planta) medida conforme os meses de colheita em Atibaia e Piracicaba, 1996.

Analisando o comportamento dos cultivares durante os meses de colheita notamos que em Atibaia o cultivar 'Dover' apresentou um período produtivo mais curto, notado pela produção significativamente inferior no mês de outubro (6,52 g/planta). Este comportamento difere significativamente dos cultivares 'Campinas', 'Agf 80' e 'Guarani', assemelhando-se somente ao cultivar 'Princesa Isabel' que apresentou uma produção de 16,90 g/planta neste mês. Em Piracicaba, ao contrário, 'Dover' foi o cultivar que mais produziu nos meses de setembro, outubro e novembro apesar de não apresentar diferenças significativas em relação aos outros cultivares, diferindo somente de 'Princesa Isabel' nos meses de setembro e outubro (Tabela 11).

A produção precoce, ou seja, os frutos produzidos nos meses de abril, maio e junho são os mais valorizados no Brasil. Por esta razão, nos trabalhos de melhoramento esta característica é muito importante para os cultivares testados (Passos, 1982). Neste trabalho, os cultivares analisados não diferiram quanto a produção nos meses de maio, junho e julho, o que já era esperado pois os cultivares 'Campinas', 'Guarani' e 'Princesa Isabel', foram selecionadas pelo IAC para possuírem a característica de produção precoce. O cultivar 'Dover' também foi semelhante aos selecionadas pelo IAC, demonstrando que tem produção precoce. Este pode ser, também, um dos motivos que o tornou de grande aceitação pelo produtor de morangos. A produção de frutos de cada cultivar, nos meses de colheita nas cidades de Atibaia e Piracicaba, pode ser vista nos gráficos da Figura 15.

## **ATIBAIA**



# **PIRACICA BA**

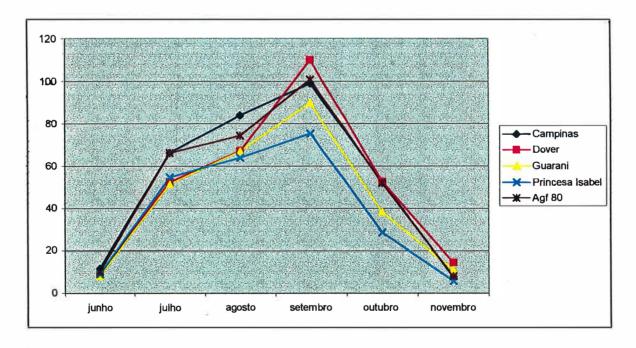


Figura 15. Produção de frutos (g/planta) dos cultivares nos meses de colheita em Atibaia (acima) e Piracicaba (abaixo), 1996.

Tabela 11. Produção de frutos em alguns meses do final do ciclo com destaque para o ciclo de produção do cultivar 'Dover', mais curto em Atibaia e mais longo em Piracicaba. Média de todas as plantas (g/planta).

Cultivares		Atībaia			Piracicaba	
	setembro	outubro	novembro	setembro	outubro	novembro
Campinas	99,78 <sup>a</sup>	31,28 <sup>b</sup>	0 <b>a</b>	99,08 <sup>ab</sup>	52,51 <sup>a</sup>	7,74 <sup>a</sup>
Dover	96,26 <sup>ab</sup>	6,52 <sup>c</sup>	0 <b>a</b>	110,14 <sup>a</sup>	52,71 <sup>a</sup>	14,53 <sup>a</sup>
Guarani	101,00 <sup>a</sup>	53,54 <sup>a</sup>	2,82 <sup>a</sup>	89,81 bc	38,29 <sup>ab</sup>	11,07 <sup>a</sup>
Princesa Isabel	76,89 <sup>b</sup>	16,90 bc	0 <b>a</b>	75,50 <sup>c</sup>	28,75 <sup>b</sup>	5,91 <sup>a</sup>
Agf 80	96,25 <sup>a</sup>	29,07 <sup>b</sup>	0 <b>a</b>	100,79 <sup>ab</sup>	51,98 <sup>a</sup>	8,03 <sup>a</sup>
DMS (5%)	22,111	22,111	22,111	17,320	17,320	17,320
CV (%)	16,878	16,878	16,878	18,414	18,414	18,414

#### 4.2.5 Número de frutos

O número total de frutos produzidos por planta variou significativamente entre os experimentos. Em Atibaia foram produzidos mais frutos que em Piracicaba. O cultivar 'Princesa Isabel' foi aquele que apresentou o menor número de frutos produzidos com valores significativamente inferiores aos demais na análise conjunta e na análise isolada do experimento de Piracicaba. Em Atibaia, o número de frutos produzidos dos cultivares 'Dover' e 'Princesa Isabel' não diferiram estatisticamente sendo que 'Princesa Isabel' produziu a menor quantidade de frutos e diferiu estatisticamente dos cultivares 'Campinas', 'Agf 80' e 'Guarani' (Tabela 12).

Em Atibaia, o cultivar 'Campinas' produziu 49,78 frutos/planta e o cultivar 'Guarani' 52,66 frutos/planta. No trabalho de Tessaroli Neto (1993), em condições semelhantes de manejo, o cultivar 'Campinas' produziu 56,52 frutos/planta. No experimento de Tessaroli Neto (1982) o cultivar 'Campinas' produziu 48,96 frutos/planta e o cultivar 'Guarani' 72,32 frutos/planta. Em experimento conduzido em Atibaia no ano de 1994, citado por Passos (1997) o cultivar 'Campinas' produziu 23,22 frutos/planta.

Tabela 12. Número total de frutos produzidos por planta, média de 64 plantas em Atibaia e Piracicaba e análise conjunta dos experimentos, 1996.

Cultivares	Atibaia	Piracicaba	Análise conjunta
Campinas	49,78 <sup>a</sup>	38,48 <sup>a</sup>	44,13 <sup>a</sup>
Dover	46,14 <sup>ab</sup>	34,39 <sup>a</sup>	40,26 <sup>a</sup>
Guarani	52,66 <sup>a</sup>	36,11 <sup>a</sup>	44,38 <sup>a</sup>
Princesa Isabel	37,03 <sup>b</sup>	25,66 <sup>b</sup>	31,34 <sup>b</sup>
Agf 80	48,12 <sup>a</sup>	38,11 <sup>a</sup>	43,12 <sup>a</sup>
DMS (5%)	10,243	7,376	5,586
CV %	9,717	9,468	9,494

#### 4.2.6 Peso médio dos frutos

O peso do fruto é uma das características de maior importância agronômica na produção comercial do morango pois esta diretamente relacionado ao tamanho do fruto. Hortynski et al. (1991) chegou ao valor de 0,864 para a correlação entre tamanho e peso de frutos. Frutos grandes tornam o processo de colheita e embalamento mais rápido e o mercado consumidor valoriza este produto, resultando em preços maiores ao produtor.

O peso médio dos frutos foi significativamente maior no experimento de Atibaia. Os resultados da análise conjunta e do experimento de Piracicaba destacaram os cultivares 'Princesa Isabel' e 'Dover' com o maior peso médio dos frutos. Em seguida, diferentes estatisticamente, vieram os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' e com o menor peso médio dos frutos e diferindo das demais ficou o cultivar 'Guarani'. No experimento de Atibaia houve uma diferença em relação ao cultivar 'Dover' que apresentou peso médio dos frutos semelhante também aos cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' (Tabela 13).

Em Atibaia, o peso médio dos frutos do cultivar 'Campinas' foi de 9,91 g e do cultivar 'Guarani' de 9,41 g. Resultados semelhantes foram obtidos por outros autores sob condições de manejo e clima parecidos. O peso médio dos frutos no trabalho de Passos (1982) variou entre 9,34 g e 10,90 g para o cultivar 'Campinas' e entre 7,50 g e 8,80 g para o cultivar 'Guarani' no experimento de Jundiaí em 1979, respectivamente para frutos "3/4 maduros" e "maduros". Tessaroli Neto (1993) chegou ao valor de 8,81 g para o cultivar 'Campinas' e Tessaroli Neto (1982) obteve o valor de 9,05 g para o cultivar 'Campinas' e 7,80 g no cultivar 'Guarani'. Passos (1997) em experimento realizado em 1994 em Atibaia com o cultivar 'Campinas' atingiu o valor de 6,12 g.

Estes resultados caracterizaram os cultivares 'Dover' e 'Princesa Isabel' como de frutos grandes, demonstrando que, assim como 'Campinas' e 'Agf 80', têm esta característica importante para o mercado de frutos "in natura".

Tabela 13. Peso médio de frutos (g), média de todo o período produtivo em 64 plantas. Atibaia e Piracicaba e análise conjunta dos experimentos, 1996.

Cultivares	Atibaia	Piracicaba	Análise conjunta
Campinas	9,91 <sup>b</sup>	8,33 <sup>b</sup>	9,12 <sup>b</sup>
Dover	10,32 <sup>ab</sup>	8,90 <sup>a</sup>	9,61 <sup>a</sup>
Guarani	9,41 <sup>c</sup>	7,28 <sup>c</sup>	8,35 <sup>c</sup>
Princesa Isabel	10,64 <sup>a</sup>	9,22 <sup>a</sup>	9,93 <sup>a</sup>
Agf 80	10,00 <sup>b</sup>	8,12 <sup>b</sup>	9,06 <sup>b</sup>
DMS (5%)	0,46935	0,56174	0,41524
CV %	2,070	2,974	3,113

#### 4.2.7 Teor de sólidos solúveis

Passos (1982) estimou o teor de sólidos solúveis por métodos quantitativos e realizou análise sensorial para verificar diferenças de sabor em frutos de morango e concluiu que a doçura esta relacionada com um teor maior de sólidos solúveis. O teor de sólidos solúveis é característica de interesse para frutos comercializados "in natura" pois o mercado consumidor prefere frutos doces.

Os resultados obtidos com o teor de sólidos solúveis estimados em graus Brix, evidenciaram, como esperado, grande variação nos cultivares testados contudo não houve variação significativa para o fator locais. Em Atibaia destacaram-se os cultivares 'Agf 80' e 'Campinas' com valores maiores de graus Brix em relação aos cultivares 'Princesa Isabel', 'Dover' e 'Guarani'. Em Piracicaba os maiores valores de graus Brix também foram dos cultivares 'Campinas' e 'Agf 80', no entanto o cultivar 'Princesa Isabel' veio em seguida não diferindo das anteriores e nem do cultivar 'Guarani' mas com valores significativamente maiores que 'Dover'. O cultivar 'Guarani' apresentou um valor semelhante ao cultivar 'Dover' mas menor que os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80'. 'Dover' apresentou o menor valor de graus Brix, semelhante apenas a 'Guarani'. Na análise conjunta dos experimentos os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' apresentaram os maiores valores de graus Brix, em seguida ficou o cultivar 'Princesa Isabel' e diferente destas mas semelhantes entre si os cultivares 'Guarani' e 'Dover' (Tabela 14).

Passos (1982) em experimento realizado em Jundiaí, 1979, chegou aos valores de 8,10 graus Brix para a variedade 'Campinas' e 5,20 para a variedade 'Guarani' em frutos "maduros". Neste trabalho, o teor de sólidos solúveis em Atibaia, onde o clima é semelhante a Jundiaí, foi de 8,45 graus Brix no cultivar 'Campinas' e 7,10 graus Brix no cultivar 'Guarani'. Podemos afirmar que o valor elevado no teor de sólidos solúveis do cultivar 'Campinas' confirma a descrição de Camargo & Passos (1993), que considera este cultivar de valor adocicado. O sabor de 'Princesa Isabel', menos doce que 'Campinas', também confirma a descrição de Camargo & Passos (1993) que consideraram o fruto de 'Princesa Isabel' suave-adocicado.

Tabela 14. Teor de sólidos solúveis expressos em graus Brix dos frutos, média de 12 amostras em Atibaia e Piracicaba e análise conjunta dos experimentos, 1996.

Cultivares	Atibaia	Piracicaba	Análise conjunta
Campinas	8,45 <sup>a</sup>	8,30 <sup>a</sup>	8,37 <sup>a</sup>
Dover	7,20 <sup>b</sup>	7,00 <sup>c</sup>	7,10 <sup>c</sup>
Guarani	7,10 <sup>b</sup>	7,30 <sup>bc</sup>	7,20 <sup>c</sup>
Princesa Isabel	7,60 <sup>b</sup>	7,95 <sup>ab</sup>	7,77 <sup>b</sup>
Agf 80	8,80 <sup>a</sup>	8,25 <sup>a</sup>	8,52 <sup>a</sup>
DMS (5%)	0,78979	0,72137	0,22806
CV %	4,473	4,122	4,532

# 4.2.8 pH dos frutos

A característica pH dos frutos é importante na determinação da finalidade de uso dos cultivares. Frutos ácidos é propriedade de morangos para uso industrial (Passos, 1982), no entanto o mercado consumidor prefere frutos pouco ácidos. A característica de pH torna dificil o desenvolvimento de cultivares de dupla aptidão, já que as exigências para cultivares de uso industrial e consumo "in natura" são opostas.

O pH dos frutos apresentou variação significativa entre os cultivares. O comportamento dos cultivares em Atibaia e Piracicaba apresentaram pequenas diferenças que podem ser notadas na tabela 15. A análise conjunta apresentou valores de pH mais elevados para o cultivar 'Princesa Isabel'. Em seguida, diferentes dos demais mas semelhantes entre si ficaram os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80'. 'Dover' apresentou valores de pH significativamente menores que 'Campinas' e 'Agf 80' e 'Guarani' valores menores ainda, significativamente menores que 'Dover' (Tabela 15).

Passos (1982) analisando o pH de frutos "maduros" obtidos de experimento conduzido em Jundiaí, no ano de 1979, chegou aos valores médios de 3,71 com o cultivar 'Campinas' e 3,31 com o cultivar 'Guarani'. Comparando com os resultados obtidos em Atibaia neste trabalho notamos que o pH médio dos frutos foram semelhantes para o cultivar 'Campinas' (3,76) e diferentes para o cultivar 'Guarani' (3,60). O fruto do cultivar 'Guarani', considerado ácido por Camargo & Passos (1993) também apresentou valores baixos de pH neste trabalho.

Tabela 15. pH dos frutos, média de 12 amostras em Atibaia e Piracicaba e análise conjunta dos experimentos, 1996.

Cultivares	Atibaia	Piracicaba	Análise conjunta
Campinas	3,76 <sup>ab</sup>	3,78 <sup>ab</sup>	3,77 <sup>b</sup>
Dover	3,68 bc	3,64 <sup>c</sup>	3,66 <sup>c</sup>
Guarani	3,60 <sup>c</sup>	3,56 <sup>c</sup>	3,58 <sup>d</sup>
Princesa Isabel	3,83 <sup>a</sup>	3,85 <sup>a</sup>	3,84 <sup>a</sup>
Agf 80	3,77 <sup>ab</sup>	3,77 <sup>b</sup>	3,77 <sup>b</sup>
DMS (5%)	0,09273	0,08420	0,02528
CV %	1,102	1,003	1,051

#### 4.2.9 Textura dos frutos

É sabido que a textura dos frutos de morango e de diversas espécies frutíferas é característica agronômica de importância para o consumo "in natura" e também quanto a durabilidade após a colheita e resistência ao transporte a longas distâncias. Os frutos pouco firmes são mais apreciados pelo mercado consumidor contudo são menos resistentes. Para uso industrial, frutos de morango firmes são mais adequados. As diferenças de textura são de fundamental importância para o produtor na escolha dos cultivares, mas é dificil diferenciar as texturas muito firme da firme, e esta da pouco firme. A caracterização quantitativa de caracteres fornece parâmetros mais exatos quanto as propriedades de textura dos frutos, e também contribui para definir a finalidade de uso dos cultivares.

Os dados de resistência à compressão, expressos em gramas, permitiram classificar a textura dos frutos, considerando a média geral dos cultivares (109,36 g) mais ou menos o desvio padrão (25,80 g) para expressar os limites para frutos de textura firme. Frutos com resistência a compressão acima do limite desta amplitude, ou seja 135,16 g, foram considerados muito firmes e aqueles com valores abaixo deste limite, ou seja 83,55 g, foram considerados frutos pouco firmes. Esta classificação, mesmo baseada em poucos cultivares, parece representativa da situação real, já que os frutos dos cultivares estudados tem ampla variabilidade quanto à textura, pois pela descrição de Camargo & Passos (1993) o cultivar 'Guarani' tem frutos muito firmes, 'Princesa Isabel' tem frutos regularmente firmes e 'Campinas' frutos firmes.

Os resultados dos experimentos de Atibaia e Piracicaba demonstraram que não houve diferença significativa quanto a textura dos frutos entre locais. Contudo, verifica-se que os cultivares, de fato, apresentaram valores de resistência a compressão diferentes, permitindo classificar o cultivar 'Guarani' como de grande resistência a compressão ou textura muito firme, com o valor médio de 144,78 g. Os cultivares 'Dover' e 'Princesa Isabel', respectivamente com 110,26 g e 123,27 g não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si, podendo ser considerados frutos de

textura firme, enquanto que os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' com os valores de 85,75 g e 82,75 g respectivamente e não diferentes entre si, ficaram situadas no limite entre os de textura firme e pouco firme (Tabela 16).

Com estes dados, os valores de textura dos cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' indicam que os frutos destes cultivares tem a característica que o consumidor de frutos "in natura" aprecia, contudo pode ser limitante para o transporte de frutos, pois estes podem sofrer danos mecânicos com facilidade. Os frutos firmes do cultivar 'Princesa Isabel' apresentam textura que permite o comércio em mercados mais distantes, diminuindo a perda de frutos, pois estes, também podem suportar mais tempo depois de colhidos. Paraskevopoulou-Paroussi et al. (1995) demonstraram que frutos mais firmes mantém melhor a qualidade durante o período de armazenamento. O cultivar 'Dover', apesar da aparente firmeza de seus frutos, apresentou valores menores que o cultivar 'Guarani', possivelmente devido a maior firmeza da polpa interna. A figura 16 mostra a curva média da textura, isto é, a textura desde a epiderme até o centro do fruto, onde se identifica a presença de dois picos de leitura. Apenas o primeiro pico, que corresponde a ruptura da epiderme, foi quantificado pelo aparelho indicando 'Guarani' como o mais firme (Tabela 16). O segundo pico de leitura não foi quantificado, todavia como se observa na figura 16, pode-se dizer que os cultivares apresentam comportamento variado quanto a firmeza da polpa interna. Neste caso, o cultivar de maior firmeza da polpa interna foi o 'Dover', seguido pelos cultivares 'Princesa Isabel', 'Campinas' e 'Agf 80', sendo estes dois últimos muito semelhantes, e 'Guarani' que, embora com a epiderme firme, apresentou a menor firmeza da polpa interna.

O valor de 144,78 g para a textura do cultivar 'Guarani' é uma característica importante para uso industrial, o que já era esperado pois ele foi selecionada com esta finalidade (Camargo & Passos,1993). Passos (1982), em experimento realizado em Jundiaí (SP), estimou a textura através da resistência a ruptura nos cultivares 'Campinas' e 'Guarani', e verificou que em frutos maduros a textura do cultivar 'Campinas' foi de 42,25 lbf/50g e no cultivar 'Guarani' de 62,50 lbf/50g. Estes resultados guardam relação com a textura do fruto determinada neste trabalho que

indicou maior firmeza dos frutos do cultivar 'Guarani' em relação ao 'Campinas'.

Os valores de textura do cultivar 'Guarani' apresentaram um desvio padrão elevado (16,81), enquanto que o cultivar 'Princesa Isabel' foi mais uniforme (7,59), o que é interessante pois mantém o padrão de textura firme em diferentes condições ambientais (Tabela 16).

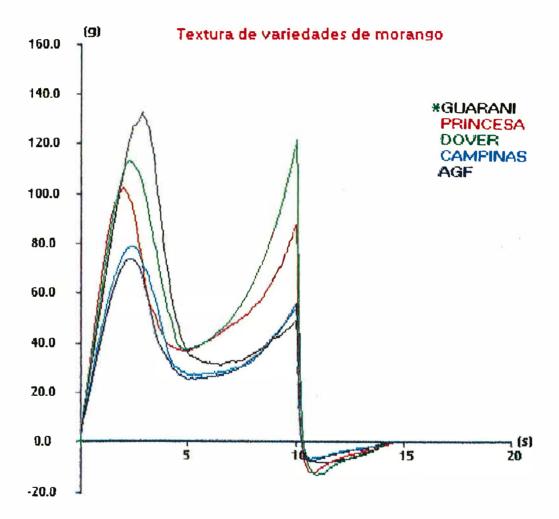


Figura 16. Textura dos cinco cultivares de morango, estimadas pela força de resistência a compressão, expressa em gramas, onde visualiza-se o primeiro pico (epiderme) e o segundo pico (polpa interna).

Tabela 16. Textura média (expressa pela resistência a compressão em gramas) dos frutos inteiros de cinco cultivares de morango e classificação quanto ao grau de resistência a compressão. Dados da análise conjunta dos experimentos de Atibaia e Piracicaba, 1996.

cultivares	Análise conjunta	Desvio padrão	Classificação
Guarani	144,78 <sup>a</sup>	16,87	muito firme
Dover	123,27 <sup>b</sup>	9,74	firme
Princesa Isabel	110,26 <sup>b</sup>	7,52	firme
Campinas	85,75 <sup>c</sup>	8,55	firme
Agf 80	82,75 <sup>c</sup>	9,91	pouco firme
DMS (5%)	16,03		
Média	109,36		
Desvio padrão	25,80		
CV %	23,59		

classificação: < 83,55 = pouco firme, entre 83,55 e 135,16 = firme e > 135,16 = muito firme

#### 4.2.10 Cor externa e interna dos frutos

A análise da coloração de frutos, através de dados fotocolorimétricos dos componentes luminosidade (L\*) e de a\* e b\*, que juntos resultam no valor de croma (c\*), possibilita estimar a quantidade de pigmentos, permitindo quantificar a característica cor. Estes dados podem ser utilizados na determinação da finalidade de uso dos cultivares. O componente a\* varia entre o vermelho e o verde e o componente b\* varia do azul ao amarelo. Em morangos, vários trabalhos com estes mesmos componentes da cor foram realizados tanto para a cor externa como interna dos frutos. Miszczak et al. (1995) e Paraskevopoulou-Paroussi et al. (1995) estudaram o comportamento dos componentes L\*, a\* e b\* em morangos inteiros pós colheita e concluíram que os valores de L\*, a\* e b\* diminuem conforme avança o tempo de armazenamento, ou seja, neste período os frutos amadurecem e tornam-se mais vermelho-escuros visualmente. Sacks & Shaw (1993) estudaram a cor interna dos morangos e concluíram que em sete dias de armazenamento os frutos se tornaram mais escuros e mais cromáticos, isto é, apresentaram valores menores de luminosidade (L\*) e elevados de croma (c\*) enquanto que, na coloração externa, quanto mais amadurecem os frutos, estes apresentam-se mais escuros e menos cromáticos. Baseados nestas constatações e nos resultados obtidos neste trabalho consideramos os componentes L\* e c\* como os mais indicados para expressar a cor em morangos. Considerando que os cultivares estudados apresentam diferenças visuais de cor externas e internas desde o vermelho claro até o escuro, sugere-se uma classificação para valores de L\* e c\* baseando-se na média de todas os cultivares e considerando o desvio padrão para mais e para menos da média, como a amplitude daquelas cultivares que estão na faixa intermediária. Assim, considerando o componente L\* como a luminosidade indicativa do grau de claro e escuro, é viável estabelecer que para a coloração externa, valores menores que 29,24 indicam cor escura, valores de L\* entre 29,34 e 34,62 indicam condição intermediária e valores maiores que 34,62 cor

clara. Para a coloração interna, valores menores que 38,35 indicam cor escura, valores entre 38,35 e 51,57 são intermediários e maiores que 51,57 de cor clara. O valor de c\* expressa o grau de croma dos frutos, onde, pela classificação proposta, frutos mais coloridos externamente apresentam valores menores que 24,92, a faixa intermediária está entre este valor e 36,08 e os frutos menos coloridos tem valores de croma maiores que 36,08. O valor de c\*, na coloração interna dos frutos, apresentou uma faixa intermediária entre 33,28 e 42,88, assim frutos menos cromáticos apresentam valores de c\* menores que 33,28 e os mais cromáticos valores maiores que 42,88.

Os dados de cor dos frutos do morango inteiro ou a cor externa e os componentes luminosidade (L\*) e croma (c\*), não mostraram diferenças significativas entre locais. Os cultivares 'Campinas', 'Agf 80' e 'Princesa Isabel' não diferiram entre si e o cultivar 'Princesa Isabel' apresentou valores inferiores de luminosidade e croma em relação aos demais. Os cultivares 'Dover' e 'Guarani' diferiram significativamente ente si e dos demais, apresentando ainda o cultivar 'Guarani' os menores valores de L\* e c\* em relação aos demais (Tabela 17). Apesar das diferenças significativas encontradas, pela classificação proposta, os cultivares 'Campinas', 'Agf 80', 'Princesa Isabel' e 'Dover' foram considerados de coloração e luminosidade intermediárias e somente 'Guarani' se destacou por apresentar valores de c\* inferiores a 24,92 e de L\* inferiores a 29,24 caracterizando coloração externa escura e mais cromática, concordando com as avaliações visuais (Figura 12).

Para os cinco cultivares, a cor interna dos morangos, expressos pelos componentes L\* e c\*, não variou entre os experimentos. Quanto a luminosidade (L\*), os cultivares 'Dover', 'Princesa Isabel', 'Agf 80' e 'Campinas' não diferiram significativamente entre si, tendo diferido de 'Guarani' que apresentou valor de L\* de 35,81. Pela classificação proposta, estas cultivares ficaram no grupo intermediário e 'Guarani' no grupo de coloração escura. Quanto ao croma (c\*) dos frutos, os cultivares mostraram diferenças, sendo 'Campinas', 'Agf 80' e 'Princesa Isabel' intermediários e o cultivar 'Dover' foi considerado pouco cromático (Tabela 18). A coloração interna é uma das mais importantes características do morango para uso industrial. O vermelho intenso

do cultivar 'Guarani' quando observado visualmente (Figura 17), também refletiu em um valor de croma maior que 42,88 e em um valor de L\* menor que 38,35. No entanto, os dados mostraram que o cultivar 'Dover' não tem coloração interna vermelho intensa, pois tem valor de L\* de 49,26 e de croma de 32,47, o que deve prejudicar o seu uso na industrialização. O cultivar 'Guarani' também apresentou o desvio padrão de 2,06 para o componente luminosidade, o menor entre os cultivares estudados, indicando que há baixa variação para esta característica neste cultivar.

Passos (1982) estudou os componentes L\*, a\* e b\* utilizando método mais simples que o deste trabalho, e também fez a análise subjetiva de cor e verificou que o cultivar 'Guarani' apresentou, para coloração interna, valores elevados de a\* e baixos de L\*, caracterizando cor vermelho intenso, coincidindo com as avaliações subjetivas. Os resultados deste trabalho, demonstraram que o cultivar 'Guarani', selecionado na década de setenta com fins específicos para uso industrial (Camargo & Passos, 1993), mostra-se o mais recomendado para uso na indústria, ressaltando a importância dos trabalhos de melhoramento que, mesmo utilizando métodos mais simples, foram bem sucedidos na seleção deste cultivar.

Shaw & Sacks (1995) estudaram a eficiência para a seleção para coloração mais escura da região interna e externa dos frutos utilizando o componente L\* e concluíram que a resposta obtida foi maior que a esperada.

Tabela 17. Componentes da cor externa L\* (luminosidade) e c\* (croma) dos frutos em cinco cultivares de morango e classificação quanto a cor. Dados médios da análise conjunta dos experimentos de Atibaia e Piracicaba, 1996.

cultivares	L*	Desvio padrão de L*	classificação quanto a L*	c*	Desvio padrão de c*	classificação quanto a c*
Campinas	34,15 <sup>a</sup>	2,06	intermediário	34,29 <sup>a</sup>	2,54	intermediário
Agf 80	34,12 <sup>a</sup>	0,74	intermediário	34,43 <sup>a</sup>	1,31	intermediário
Princesa	33,01 <sup>a</sup>	1,26	intermediário	33,96 <sup>a</sup>	2,04	intermediário
Dover	30,10 <sup>b</sup>	1,39	intermediário	28,66 <sup>b</sup>	2,98	intermediário
Guarani	28,27 <sup>c</sup>	0,58	escuro	21,23 <sup>c</sup>	1,76	muito cromático
DMS (5%) Média Desvio Pad CV %	1,53 31,93 2,68 8,42			3,19 30,50 5,58 18,29		

c\* = raiz quadrada de a\*² + b\*². Classificação: < 24,92 = muito cromáticos, entre 24,92 e 36,08 = intermediários e > 36,08 = pouco cromáticos

L\* (claro/escuro; 0 = preto e 100 = branco). Classificação: < 31,93 = escuros, entre 29,24 e 34,62 = intermediários e > 34,62 = claros

Tabela 18. Componentes da cor interna (morangos cortados) L\* (luminosidade) e c\* (croma) dos frutos em cinco cultivares de morango e classificação quanto a cor. Dados médios da análise conjunta dos experimentos de Atibaia e Piracicaba, 1996.

cultivares	L*	L* Desvio classificação padrão quanto a L* de L*		Desvio padrão de c*	classificação quanto a c*	
Dover	49,26 <sup>a</sup>	4,22	intermediário	32,47 <sup>c</sup>	1,45	pouco cromático
Princesa	48,77 <sup>a</sup>	3,15	intermediário	36,63 <sup>bc</sup>	2,69	intermediário
Agf 80	47,33 <sup>a</sup>	7,19	intermediário	38,42 <sup>b</sup>	4,73	intermediário
Campinas	43,66 <sup>a</sup>	4,28	intermediário	39,17 <sup>ab</sup>	3,01	intermediário
Guarani	35,81 <sup>b</sup>	2,06	escuro	43,68 <sup>a</sup>	2,00	muito cromático
DMS (5%) Média Desvio Pad CV %	6,78 44,96 6,61 14,70			4,72 38,08 4,80 12,60		

c\* = raiz quadrada de  $a^{*2} + b^{*2}$ . Classificação: < 33,28 = pouco cromáticos, entre 33,28 e 42,88 = intermediários e > 42,88 = muito cromáticos.

L\* (claro/escuro; 0 = preto e 100 = branco). Classificação: < 38,35 = escuros, entre 38,35 e 51,57 = intermediários e > 51,57 = claros.

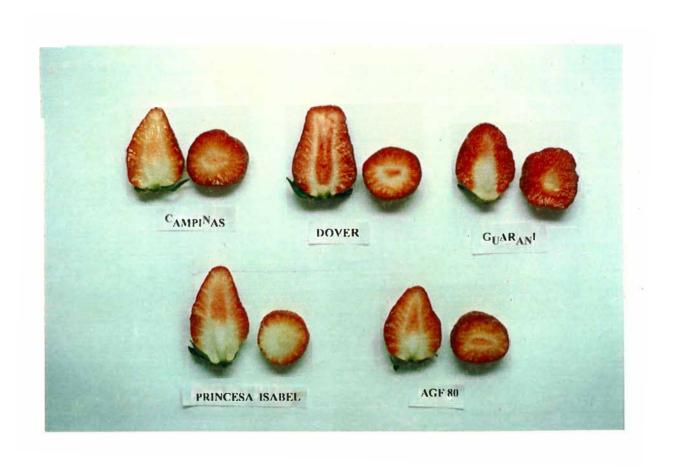


Figura 17. Aparência interna dos frutos visualizando-se diferenças de cor.

# 4.3 Características morfológicas e agronômicas correlacionadas

A análise de correlação entre as características estudadas resultou em 66,7 % de correlaçãoes significativas (Tabela 19). No entanto, estudando as características correlacionadas, verificamos que o resultado isolado de uma ou duas cultivares influenciaram o valor da correlação pois haviam somente cinco cultivares sendo testadas. Assim, para verificar o efeito de cultivares isolados, a análise de correlação foi realizada, inicialmente, retirando-se um cultivar de cada vez, ou seja, correlacionando-se quatro cultivares e, posteriormente, retirando-se dois cultivares de cada vez, ou seja, correlacionando-se três cultivares. Estes resultados indicaram que, mesmo retirando-se os cultivares, algumas correlações, descritas abaixo, ainda se mantiveram significativas.

Uma correlação negativa entre o ângulo da base do folíolo e a relação entre o comprimento e a largura do folíolo (-0,997) era esperada pois estas características que determinam a forma do folíolo. Quanto menor o ângulo da base, o folíolo tende a um formato menos redondo e mais elipsoidal. A análise de correlação também indicou que a textura dos frutos esta inversamente correlacionada ao teor de sólidos solúveis (-0,938), ao pH (-0.763), ao croma (-0.912) e a luminosidade (-0.967) para a cor externa dos frutos. O teor de sólidos solúveis esta diretamente correlacionado ao pH (0,697), ao croma (0,786) e a luminosidade (0,919) para a cor externa dos frutos. O pH também esta diretamente correlacionado ao croma (0,936) e a luminosidade (0,897) para a cor externa dos frutos. Estas correlações indicam que cultivares de frutos firmes, têm, geralmente, frutos menos doces, mais ácidos e mais vermelho escuros externamente. Os dados de correlação entre os caracteres luminosidade (L\*) e croma (c\*) neste trabalho, indicam que há uma correlação grande entre o valor de L\* e o de c\* para cor externa, expresso pelo valor de r de 0,964 e para a cor interna, onde L\* e c\* também estão correlacionados inversamente (-0,900). É possível que, graças a esta correlação elevada, a seleção para a coloração mais escura seja eficiente utilizando apenas o componente L\*, como observou Shaw & Sacks (1995). Estas observações tornam este componente importante parâmetro

no melhoramento genético do morangueiro, ao se pretender melhorar os cultivares estudados neste trabalho, conforme indicam os dados. O peso dos frutos também esta inversamente correlacionado ao número de frutos (-0,819), ao croma para cor interna (-0,843) e diretamente correlacionado a luminosidade para a cor interna (0,902), indicando que cultivares de frutos grandes geralmente produzem menos número de frutos com cor interna vermelha pouca intensa.

A correlação positiva entre os dados de número de frutos e produção total (0,923) indica que grandes produções estariam relacionadas ao número de frutos produzidos e não ao tamanho deles, no entanto esta correlação não se manteve significativa quando foram retiradas alguns cultivares da análise. Resultados semelhantes foram obtidos por Tessaroli Neto (1982) que estimou o valor da correlação (r) entre a produção de frutos e o número total de frutos em 0,93. Tessaroli Neto (1993) também estimou o valor da correlação para peso de frutos "comerciáveis" e número total de frutos em 0,99. Estes resultados dão indicações que o fator determinante da produção é o número de frutos produzidos e não o tamanho deles. No entanto, Hortynski et al. (1991) também estimou a correlação entre os componentes da produção e chegou a resultados diferentes deste trabalho. Estes autores estimaram a correlação entre a produção total e o peso de frutos em 0,03 e entre o peso de frutos e o número de frutos em - 0,38. Neste trabalho foram estimados valores diferentes respectivamente -0,536 para a correlação entre produção e peso de frutos e -0,819 entre peso e número de frutos.

Tabela 19. Correlações entre as características quantitativas estudadas dada pelo valor de "r". Sendo 1. ângulo da base do folíolo, 2. textura dos frutos, 3. produção total de frutos, 4. teor de sólidos solúveis dos frutos, 5. pH dos frutos, 6. relação entre o comprimento e a largura do folíolo, 7. número de frutos, 8. peso médio dos frutos, 9. croma para cor externa dos frutos, 10. croma para cor interna dos frutos, 11. luminosidade para cor externa dos frutos, 12. luminosidade para cor interna dos frutos.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1	1,000	-0,363*	0,274	0,652*	0,085	-0,997*	0,494*	-0,664*	0,069	0,835*	0,329*	-0,563*	
2		1,000	-0,261	-0,938*	-0,763*	0,410*	-0,051	-0,289	-0,912*	0,198	-0,967*	-0,505*	
3			1,000	0,229	-0,411*	-0,290	0,923*	-0,536*	-0,092	0,115	0,019	-0,242	
4				1,000	0,697*	-0,688*	0,146	0,035	0,786*	0,140	0,919*	0,230	
5					1,000	-0,127	-0,586*	0,688*	0,936*	-0,327	0,897*	0,668*	
6						1,000	-0,490*	0,631*	-0,120	-0,811*	-0,378*	0,536*	
7							1,000	-0,819*	-0,349*	0,465*	-0,172	-0,576*	
8								1,000	0,640*	-0,843*	0,421*	0,902*	
9									1,000	-0,443*	0,964*	0,743*	
10										1,000	-0,201	-0,900*	
11											1,000	0,547*	
12												1,000	

Os valores de "r" com asterisco (\*) são significativos pelo teste T, ao nível de 5%.

# 4.4 Perfil morfológico e agronômico dos cultivares

Os dados morfológicos e agronômicos foram agrupados neste capítulo a fim de determinar para cada cultivar isoladamente, a aptidão aos consumos "in natura" e industrial e também para analisar o desempenho produtivo e aspectos ligados a comercialização. Os resultados foram expressos através dos dados médios da análise conjunta dos experimentos de Atibaia e Piracicaba. Os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' foram analisadas em conjunto, pois não apresentaram diferenças significativas nas características estudadas e os resultados foram expressos na média do desempenho dos dois cultivares.

Os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' apresentaram folíolos verde-escuros e razão entre o comprimento e a largura de 0,9715 indicando folíolos de formato arredondado. Os frutos apresentaram razão entre a base e a altura do triângulo circunscrito de 0,943 indicando formato cônico alongado e inflorescências pouco protegidas pelas folhas. Os frutos mostraram um teor de sólidos solúveis de 8,445 graus Brix, pH de 3,77, valores de textura de 84,25 g e peso médio de 9,09 g. As características do fruto de textura firme a pouco firme, elevado teor de sólidos solúveis e tamanho grande, expresso pelo peso elevado, caracterizaram aptidão ao consumo "in natura". Estas cultivares também apresentaram elevado desempenho produtivo (401,97 g/planta). No entanto, pela textura dos frutos, não são adequadas ao transporte a longas distâncias.

O cultivar 'Guarani' tem folíolos variando do verde claro ao médio, razão entre o comprimento e a largura do folíolo de 0,998 caracterizando formato arredondado e inflorescências regularmente protegidas pelas folhas. Os frutos tem peso médio de 8,35 g com "pescoço", teor de sólidos solúveis de 7,20 graus Brix, pH de 3,58, textura de 144,78 g, cor interna com valores de luminosidade (L\*) de 35,81 e croma (c\*) de 43,68, cor externa com valores de L\* de 28,27 e de c\* de 21,23 e também apresentou elevado

desempenho produtivo (379,98 g/planta). Pelas características do fruto de presença de pescoço, pH ácido, textura muito firme e cor interna vermelho intensa, o cultivar 'Guarani' demonstra ter aptidão ao uso industrial. A textura muito firme de seus frutos também o tornam adequado ao transporte a longas distâncias.

O cultivar 'Dover' caracterizou-se pela presença de folíolos com razão entre o comprimento e a largura de 1,226, caracterizando formato elíptico, inflorescências posicionadas acima e abaixo da folhagem e pouco protegidas pelas folhas. Os frutos, sem "pescoço", formato cônico alongado com razão entre a base e a altura de 0,652 caracterizando formato cônico alongado, peso médio de 9,61 g, teor de sólidos solúveis de 7,10 graus Brix, pH de 3,66, valores de textura de 123,27 g e valor de L\* de 49,26 e de c\* de 32,47 para a cor interna. As produções de frutos foram elevadas (390,96 g/planta). O cultivar 'Dover' possue frutos grandes, interessantes para o consumo "in natura". No entanto, as características de textura da polpa interna elevada, pH ácido e teor baixo de sólidos solúveis a tornam inadequado ao consumo "in natura". Para uso industrial, este cultivar apresenta características de interesse como frutos com pH ácido e textura firme no entanto os frutos não tem "pescoço" e a cor interna não é vermelho intensa o que o torna inadequado ao uso industrial. As características de textura da epiderme firme e do miolo elevada são indicadas para o transporte a longas distâncias.

O cultivar 'Princesa Isabel' tem folíolos com razão entre o comprimento e a largura de 1,100 indicando formato próximo ao elíptico e inflorescências pouco protegidas pelas folhas. Os frutos apresentam o formato cônico alongado com razão entre a base e a altura de 0,838. Os frutos tem peso médio de 9,93 g, teor de sólidos solúveis de 7,77 graus Brix, pH de 3,84 e valor de textura de 110,26 g. Pelas características de peso elevado de frutos e pH pouco ácido, este cultivar demonstra aptidão ao consumo "in natura". A textura elevada de seus frutos, na epiderme, é maior que a dos cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' o que não prejudica a aceitação pelo consumidor e, por outro lado, é mais resistente ao transporte. O cultivar 'Princesa Isabel' não apresenta a textura da polpa interna elevada que é característica do cultivar 'Dover' e prejudica a aceitação dessa cultivar pelo consumidor. O desempenho produtivo do

cultivar 'Princesa Isabel' foi de 315,40 g/planta, o menor entre os cultivares testados, no entanto é possível que o potencial produtivo não tenha se expressado totalmente devido a maior ocorrência de doenças neste cultivar. É possível que este cultivar demonstre uma boa adequação ao cultivo protegido, onde a ocorrência de doenças normalmente é menor

Estes resultados indicam que o cultivar 'Guarani' é o mais adequado ao uso industrial mas é impróprio ao consumo "in natura" e os cultivares 'Campinas', 'Agf 80' e 'Princesa Isabel' são os mais adequados ao consumo "in natura". O cultivar 'Dover' não tem aptidão para consumo "in natura" nem para o uso industrial, mas é resistente ao transporte. O cultivar 'Princesa Isabel' se destaca dos cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' pela maior firmeza dos seus frutos, que é uma característica muito importante para o produtor pela maior resistência ao transporte, entretanto este cultivar apresentou o menor desempenho produtivo entre os cultivares testados. Pelos dados obtidos, nenhum dos cultivares testados tem dupla aptidão, ou seja, possibilidade de utilização na indústria e no consumo "in natura".

#### 4.5 Características moleculares

A obtenção dos géis de RAPD seguiu o proposto por Williams (1990). Para a determinação das quantidades de reagentes da reação de amplificação foram utilizados os trabalhos de Levi et al. (1993); Gidoni et al. (1994); Parent & Pagé (1995) e Davis et al. (1995). A quantidade de MgCl<sub>2</sub> foi estabelecida através de um gel onde foram testadas concentrações de 1,5 a 3,5 uM de MgCl<sub>2</sub>, e a que apresentou melhor definição foi a concentração de 1,8 uM (Figura 18). A quantidade de DNA também foi estabelecida com base em um teste onde foram analisadas as concentrações de 5, 15, 20, 25, 30, 35 e 45 nanogramas (ng) de DNA por reação (Figura 19). O resultado não mostrou vantagem aparente em nenhuma concentração de DNA, optou-se então pela quantidade de 25 ng de DNA por reação.

Os "primers" utilizados foram escolhidos buscando-se procurar os que apresentavam capacidade de gerar número médio de fragmentos de DNA amplificados polimórficos (bandas) e de alto peso, maior polimorfismo e alta repetibilidade dos resultados. Para isso foram utilizadas os cultivares 'Dr. Morèrè' e 'Toyonoka', supostamente distantes geneticamente (ítem 3.1.). Esses cultivares foram testados com sessenta "primers" adquiridos da Operon Technologies INC, sendo vinte do Kit B, vinte do Kit G e vinte do Kit J. Baseado nestes resultados foram escolhidos os seguintes "primers": B 6, B 8, B 19, B 20, J 12 e J 16. Os "primers" G 2, G 5, G 11 e F 7 foram escolhidos porque apresentavam bom polimorfismo no trabalho de Gidoni et al. (1994) e os "primers" F 7 e G 11 porque deram bons resultados no trabalho de Parent & Pagé (1995).

Os ensaios eletroforéticos realizados com a amplificação dos fragmentos de DNA com os "primers" B6, B8, B19, G5 e G11 permitiram a formação de um dendograma com o grau de similaridade envolvendo os vinte e seis cultivares testados e um mapa de bandas semelhantes aos do trabalho de Graham et al. (1996). Utilizando os "primers" B8, B19 e G5, foi proposto um quadro de identificação de cultivares semelhante ao de Gidoni et al. (1994) e uma chave dicotômica para a identificação dos cultivares baseado no trabalho de Parent & Pagé (1995).

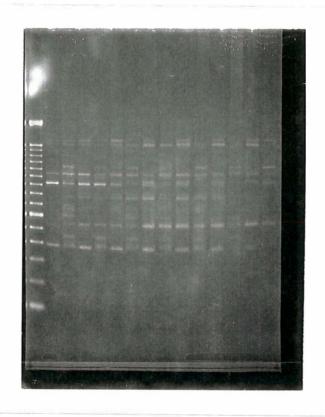


Figura 18. Gel de RAPD com diferentes concentrações de MgCl<sub>2</sub> (uM). Sendo, da esquerda para a direita e seguindo a ordem das canaletas: 1 (marcador 100 bpa Dna Ladder), 2 e 3 (1,5 uM), 4 e 5 (1,8 uM), 6 e 7 (2,0 uM), 8 e 9 (2,2 uM), 10 e 11 (2,5 uM), 12 e 13 (3,0 uM) e 14 e 15 (3,5 uM). Nas canaletas pares dispuseram-se amostras do cultivar Dr.Morèrè e nas ímpares 'Toyonoka'. "Primer" utilizado: B 5.

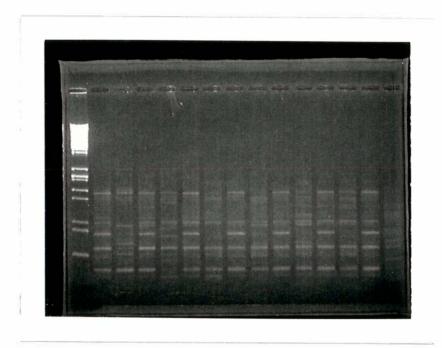


Figura 19. Gel de RAPD com diferentes concentrações de DNA (ng/reação). Sendo, da esquerda para a direita e seguindo a ordem das canaletas: 1 (marcador eco hind), 2 e 3 (5 ng), 4 e 5 (15 ng), 6 e 7 (20 ng), 8 e 9 (25 ng), 10 e 11 (30 ng), 12 e 13 (35 ng) e 14 e 15 (45 ng). Nas canaletas pares dispuseram-se amostras do cultivar Dr. Morèrè e nas ímpares 'Toyonoka'. "Primer" utilizado B 6.

### 4.5.1 Dendograma e grau de similaridade

Os dendogramas formados pelas vinte e seis cultivares, com os coeficientes de Jaccard (J) e Simple Mating (SM), foram feitos com os resultados obtidos com os "primers" B6, B19, B8, G5 e G11, que geraram um total de setenta e três fragmentos polimórficos. Estes "primers" foram escolhidos pois apresentavam média quantidade de bandas, de alto peso, polimórficas e com repetibilidade. Após a análise conjunta dos cinco "primers" foi possível atingir a estabilidade do dendograma, o que o torna confiável conforme o proposto por Thorman et al. (1994). O dendograma formado, baseado no coeficiente de similaridade de Jaccard (J), que desconsidera as coincidências negativas, está exposto na Figura 20 e resultou em seis grupos de cultivares semelhantes aos cinco grupos gerados pelo coeficiente SM (Simple Matting), exposto na Figura 21. Campos-Tavares (1998) trabalhou com 37 genótipos de lentilhas com dados de RAPD e formou quatro grupos de afinidade com o índice SM e seis grupos com o índice de Jaccard.

Graham et al. (1996) estudou oito cultivares de morango de quatro diferentes programas de melhoramento sendo dois do Reino Unido, um da Holanda e um dos EUA e conseguiu separar os oito cultivares através do dendograma formado com dados de RAPD e do dendograma baseado em dados de pedigree. No entanto, os dendogramas obtidos apresentaram algumas diferenças na porcentagem de similaridade entre os cultivares e na disposição delas no dendograma.

A disposição dos cultivares no dendograma deste trabalho permitiu distinguir as mais próximas e as mais distantes geneticamente. Uma comparação dos resultados do dendograma obtidos neste trabalho, pelo método de RAPD, com o dendograma baseado em origem, como foi realizado por Graham et al. (1996), não pode ser feita por não haver dados precisos da origem dos cultivares. No entanto, comparando-se as informações de origem dos vinte e seis cultivares estudados com o dendograma obtido, notamos que existe uma relação entre a origem dos cultivares e o

grau de similaridade exposto no dendograma.

Pelos dados da matriz de similaridade genética obtidas com o índice de Jaccard, os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' não apresentaram diferenças na caracterização molecular, ou seja similaridade de 100 %. Este resultado não pode ser comparado com as informações de origem, já que não há informações sobre o cultivar 'Agf 80' desenvolvida pela Empresa Agroflora. Estes cultivares formaram um grupo com os cultivares 'Piedade', 'Jundiai' e 'Monte Alegre', apresentando uma similaridade 74,1 % com o cultivar Jundiaí e de 71,4 % com os cultivares 'Monte Alegre' e 'Piedade'. Este resultado confirma as informações de origem, já que estes três cultivares tem o cultivar 'Campinas' no pedigree (item 3.1.). O grupo formado pelos cultivares 'Dover', 'Princesa Isabel' e 'Dabreak' não tem relações com as informações de origem, no entanto existe uma semelhança nas características morfológicas e agronômicas entre os cultivares 'Dover' e 'Princesa Isabel' (ítem 4.3.). O grau de similaridade entre o cultivar 'Dover' e o cultivar 'Princesa Isabel', pelos dados moleculares, foi de 75 %. O cultivar 'Dover' apresentou uma similaridade de 44,4 % com o cultivar 'Florida Belle' que é uma das progenitoras deste cultivar. Outro grupo formado tem os cultivares 'Chandler', 'Seascape', 'Lassen', 'Blackmore', 'Reiko' e 'Pajaro'. Dentro deste grupo, alguns cultivares se destacam pela alta similaridade. O grau de similaridade entre os cultivares 'Lassen' e 'Blackmore' (69,6 %) é confirmado pela origem do cultivar 'Lassen' que tem o cultivar 'Blackmore' em seu pedigree. A similaridade entre o cultivar 'Reiko' e o cultivar 'Pajaro' (71,4 %) não pode ser confirmada, pois não há informações sobre o pedigree do cultivar 'Reiko'. A similaridade de 65,4 % no dendograma entre os cultivares 'Chandler' e 'Seascape' pode ser devida a ambas terem sido selecionados na Universidade da California. O cultivar 'Seascape' tem no seu pedigree o cultivar 'Selva' e apresentaram uma similaridade de 51,9 %. Um grupo foi formado com os cultivares 'Florida Belle' e 'Selva' com 60,9 % de similaridade, no entanto eles foram selecionados na Florida e na California respectivamente. O cultivar 'Florida Belle' tem no seu pedigree o cultivar 'Sequoia' e ambos apresentam 50,0 % de similaridade. A interpretação do grupo formado entre os cultivares 'Obaira' e 'Mantiqueira' (50 % de similaridade) ficou prejudicada pela falta de informações do cultivar 'Obaira'. Os cultivares 'Fern' e 'Oso Grande' formaram um grupo no dendograma e mostraram um grau de similaridade de 50 %. No entanto, em relação a origem, a única semelhança é que ambos são da Universidade da California. O cultivar 'Korona' demonstrou ser o mais diferente dos cultivares do dendograma e tem também uma origem holandesa, diferente de todos os demais. O cultivar mais próxima do cultivar 'Korona' foi o cultivar 'Fern' com similaridade de 24,0 %.

Estes dados destacaram como coerentes com a origem os grupos formados pelos cultivares 'Campinas', 'Agf 80', 'Jundiai', 'Piedade' e 'Monte Alegre', pois estes cultivares foram selecionadas no IAC, menos 'Agf 80' que não tem informações de origem, mas pelos dados morfológicos tem 100,0 % similaridade com o cultivar 'Campinas'. O grupo formado pelos cultivares 'Lassen', 'Reiko', 'Chandler', 'Pajaro', 'Blackmore' e 'Seascape' só não é coerente com a origem porque o cultivar 'Reiko' foi selecionado no Japão e não na California, como os demais. O grupo formado pelos cultivares 'Obaira' e 'Mantiqueira' é coerente com os dados de origem pois ambos foram selecionadas no IAC, assim como o grupo formado pelos cultivares 'Fern' e 'Oso Grande', ambos selecionados na California. O grupo formado pelos cultivares 'Dover', 'Princesa Isabel' e 'Dabreak' só é coerente com os dados morfológicos e agronômicos que indicaram os cultivares 'Dover' e 'Princesa Isabel' com similaridade de 50 %, considerada alta (ítem 4.6.), mostrando que, possivelmente, 'Princesa Isabel' guarda relação de origem com 'Dover'. O grupo formado pelos cultivares 'Florida Belle' e 'Selva' não tem coerência com os dados de origem, pois o primeiro foi selecionado na Florida e o segundo na California.

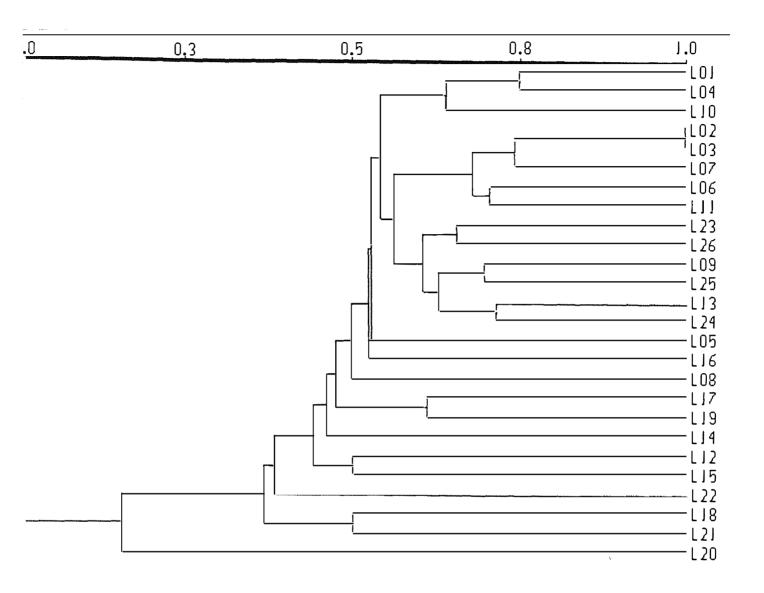


Figura 20. Dendograma obtido com os dados de RAPD nos 26 cultivares testados, com o índice de Jaccard. A numeração superior indica o grau de similaridade e os números indicam os cultivares, sendo L1.Dover, L2.Agf 80, L3.Campinas, L4.Princesa Isabel, L5.Guarani, L6.Piedade, L7.Jundiai, L8.Cruz, L9.Lassen, L10.Dabreak, L11.Monte Alegre, L12.Obaira, L13.Reiko, L14.Dr.Morèrè, L15.Mantiqueira, L16.Sequoia, L17. Florida Belle, L18.Fern, L19.Selva, L20.Korona, L21.Oso Grande, L22.Toyonoka, L23.Chandler, L24.Pajaro, L25.Blackmore e L26.Seascape.

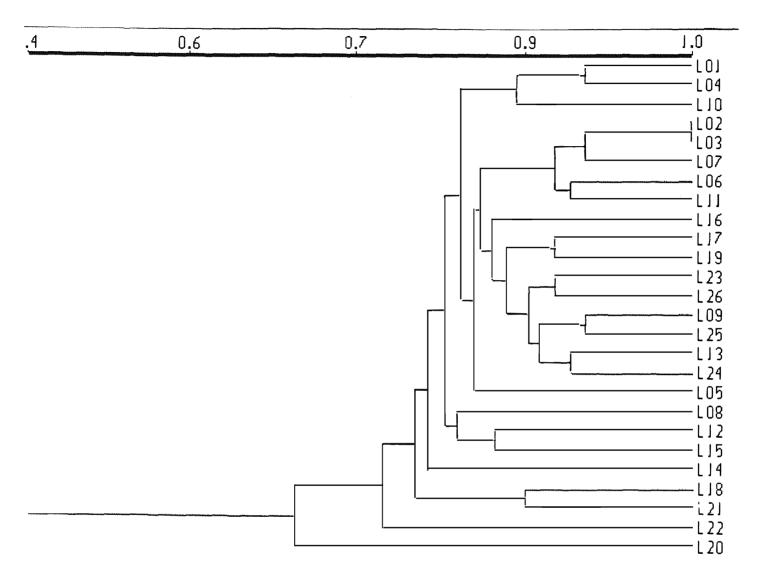


Figura 21. Dendograma obtido com os dados de RAPD nos 26 cultivares testados, com o índice Simple Matting. A numeração superior indica o grau de similaridade e os números indicam os cultivares, sendo L1.Dover, L2.Agf 80, L3.Campinas, L4.Princesa Isabel, L5.Guarani, L6.Piedade, L7.Jundiai, L8.Cruz, L9.Lassen, L10.Dabreak, L11.Monte Alegre, L12.Obaira, L13.Reiko, L14.Dr.Morèrè, L15.Mantiqueira, L16.Sequoia, L17. Florida Belle, L18.Fern, L19.Selva, L20.Korona, L21.Oso Grande, L22.Toyonoka, L23.Chandler, L24.Pajaro, L25.Blackmore e L26.Seascape.

# 4.5.2 Mapa de bandas ("bandmap")

Inicialmente proposto por Powell (1991), o mapa de bandas é uma alternativa para apresentar os dados de "marcadores" (fragmentos de DNA amplificados de determinado peso) e a disposição deles nos cultivares utilizados. Este método permite uma visão ampla da disposição dos "marcadores" e com ele é possível identificar o número de "marcadores" por cultivar e o número de cultivares com um determinado "marcador". Graham et al. (1996) utilizou este recurso em morangos. Neste trabalho foi construído este quadro com as vinte e seis cultivares e os mesmos setenta e três "marcadores" utilizados no dendograma. Neste quadro são colocadas os cultivares e a respectiva disposição de bandas começando de baixo para cima, com os "marcadores" que possuem somente uma banda por cultivar, em seguida aqueles que possuem duas bandas por cultivar e assim por diante até, no final, aqueles "marcadores" que possuem bandas em todos os cultivares. A presença de produtos de amplificação estão representados por espaços cheios e a ordem dos cultivares é indicada exatamente como a gerada pelo dendograma com o índice de Jaccard. Os números acima do quadro são dos cultivares estudados. Os números abaixo do quadro indicam a quantidade de bandas do cultivar respectivo. Os números da margem esquerda indicam a quantidade de bandas que cada "marcador" apresenta nos cultivares estudados. As designações da margem direita indicam a denominação dos "marcadores", sendo a primeira letra e o primeiro número a designação do "primer" e a última letra a denominação do "marcador" (Figura 22).

O mapa de bandas deu indicações da disposição dos "marcadores" nos cultivares. A maior parte dos "marcadores" apresentaram poucas bandas por cultivar, pois 23,29 % dos "marcadores" apresentaram uma banda por cultivar e 68,50 % apresentaram até seis bandas por cultivar. O cultivar 'Korona' apresentou o menor número de bandas para os "marcadores" testados, em número de treze. Os cultivares 'Princesa Isabel' e 'Dabreak' apresentaram o maior número de bandas para os

"marcadores" testados, num total de vinte e oito. Verificando o mapa de bandas, notamos que não houve "marcador" que pudesse identificar algum dos grupos de cultivares indicados no dendograma.

### 4.5.3 Quadro de identificação

Uma outra maneira de apresentar os dados de "marcadores" moleculares de RAPD é através de um quadro com o número suficiente de "marcadores" para identificar os cultivares. Gidoni et al. (1994) montou um quadro de identificação para oito cultivares de morangueiro com os resultados da análise de RAPD e identificaram os fragmentos polimórficos de DNA ("marcadores") pelo número de pares de bases e pelo "primer" que deu origem. O quadro foi composto de oito cultivares e dez "marcadores". Neste trabalho foi possível montar este quadro de identificação (Figura 23) com os vinte e seis cultivares e vinte fragmentos polimórficos utilizadas como "marcadores", sendo seis do "primer" B 8 (Figura 24), dez do "primer" B 19 (Figura 25) e quatro do "primer" G 5 (Figura 26). A cada cultivar foi atribuído um número e todos os cultivares foram dispostos da esquerda para a direita na ordem crescente da numeração que foi atribuída no ítem 3.2.3.

O quadro de identificação mostra os vinte "marcadores" utilizados na identificação dos cultivares e a respectiva ocorrência de bandas nos vinte e seis cultivares testados. Para identificar os cultivares e separá-los entre si, foi proposto um conjunto de "marcadores" que identificam cada cultivar e os diferem dos demais. Assim, descreveremos os cultivares e os respectivos "marcadores" seguidos do símbolo "+" quando a banda esta presente e do símbolo "-" quando está ausente. O cultivar 'Dabreak' é identificado pelo "marcador" B8G (+). O cultivar 'Korona' é identificado pelo "marcador" B8L (+). O cultivar 'Florida Belle' é identificado pelo "marcador" B19I (+). O cultivar 'Dr. Morèrè' é identificado pelo "marcador" B19L (+). O cultivar 'Sequoia' é identificado pelo "marcador" G5C (+). O cultivar 'Toyonoka' é identificado pelo "marcador" G5D (+). O

cultivar 'Cruz' é identificado pelos "marcadores" G5N (+) e B8L (-). O cultivar 'Monte Alegre' é identificado pelos "marcadores" B19W (+) e G5N (-). O cultivar 'Piedade' é identificado pelos "marcadores" B19R (+), B19W(-) e B19L (-). O cultivar 'Guarani' é identificado pelos "marcadores" B19V (+) e B19P (+). O cultivar 'Princesa Isabel' é identificado pelos "marcadores" B19V (+) e B19P (-). O cultivar 'Chandler' é identificado pelos "marcadores" B8J (+) e B19E (+). O cultivar 'Pajaro' é identificado pelos "marcadores" B8J (+) e B19E (-). O cultivar 'Seascape' é identificado pelos "marcadores" B19F (+), G5D (-) e B8J (-). O cultivar 'Blackmore' é identificado pelos "marcadores" B19M (+), B19E (+), B8G (-) e B19V (-). Os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' são identificados pelos "marcadores" B19M (+), B19E (-), B19F (-), B19W (-) e B19R (-), sendo que não foi possível separá-los entre si. O cultivar 'Dover' é identificado pelos "marcadores" B19E (+), B19M (-) e B8I (-). O cultivar 'Lassen' é identificado pelos "marcadores" B19E (+), B19M (-), G5C (-), B8J (-), B8I (+) e B19J (+). O cultivar 'Reiko' é identificado pelos "marcadores" B19E (+), B19M (-), G5D (-), B8I (+) e B19J (-) e G5A (+). O cultivar 'Oso Grande' é identificado pelos "marcadores" B19E (+), B19M (-), B8I (+) e G5A (-). O cultivar 'Selva' é identificado pelos "marcadores" G5A (+), B19E (-), B19L (-), B8L (-) e B8I (-). O cultivar 'Mantiqueira' é identificado pelos "marcadores" B19E (-), B8I (+), B8O (+), B8B (+), B19I (-), G5N (-) e B19F (-). O cultivar 'Obaira' é identificado pelos "marcadores" B19E (-), B8I (+), B8O (+), B8B (-), O cultivar 'Jundiai' é identificado pelos "marcadores" B19E (-), B19W (-), B19R (-), B19J (-), B8I (+), B8O (-) e G5A (+). O cultivar 'Fern' é identificado pelos "marcadores" B19E (-), B8I (+), B8O (-) e G5A (-).

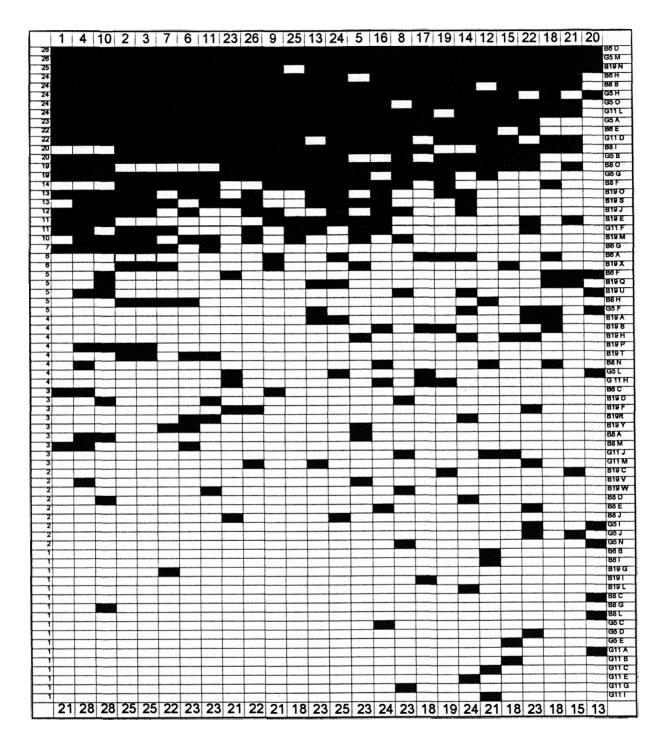


Figura 22. Mapa de bandas obtido com os dados de RAPD nos 26 cultivares (ítem 3.2.3) com o índice de Jaccard. Os números acima do mapa indicam os cultivares, abaixo a quantidade de bandas do cultivar, na margem esquerda o número de bandas de cada "marcador" e na margem direita a denominação do "marcador".

Pr. 1	ob	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
B8B	1793	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
B8G	886	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B8I	752	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
B8J	657	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
B8L	593	-	-	-	-	-	-	_	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
B8O	468	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
B19E	1255	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
B19F	11 <b>7</b> 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
B19I	1062	-	-	-	-	-	-	+	-	_	-	-	-	-	-	-	-	+		-	-	-	-	-	-	-	-
B19J	1028	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
B19L	990	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B19M	944	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	••	•	-	-	-	-	-	+	+
B19P	855	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B19R	763	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B19V	564	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B19W	522	-	-	•••	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-		- ,	-	-	-	-	-	-	-
G5A	976	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
G5C	899	-	-	-	-	-	***	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	_	-	-	-	-	-
G5D	843	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
G5N	264	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	+	-		-	-	-	-

Figura 23. Quadro de identificação que separa os 26 cultivares testados individualmente, onde "+" indica a presença do "marcador" e "-" a ausência. Na primeira coluna esta a denominação do "primer" (pr), seguida da letra identificativa do "marcador" e na segunda o número de pares de base (pb) do "marcador" e nas outras 26 colunas, os cultivares em ordem crescente (ítem 3.2.3.).

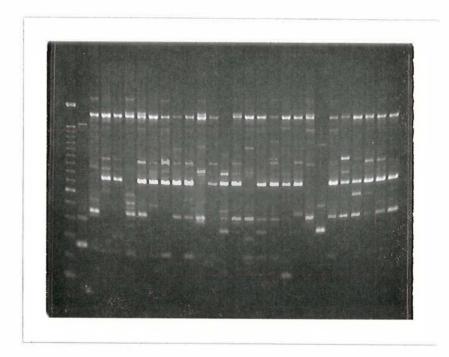


Figura 24. Eletroforese em gel de agarose de RAPD, de plantas representativas dos 26 cultivares testados com o "primer" Operon Technologies B 8, sendo a 1° canaleta o "marcador" de peso molecular conhecido 100 bpa DNA ladder, a segunda o branco e as seguintes os cultivares em ordem crescente de numeração.

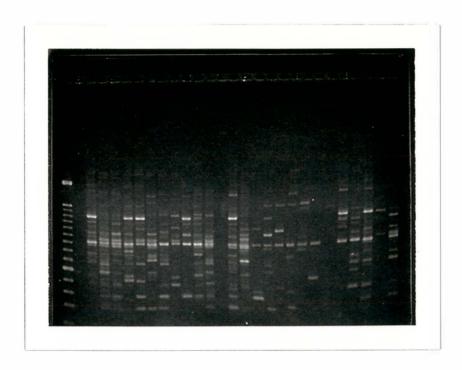


Figura 25. Eletroforese em gel de agarose de RAPD, de plantas representativas dos 26 cultivares testados com o "primer" Operon Technologies B 19, sendo a 1º canaleta o "marcador" de peso molecular conhecido 100 bpa DNA ladder, a segunda o branco e as seguintes os cultivares em ordem crescente de numeração.

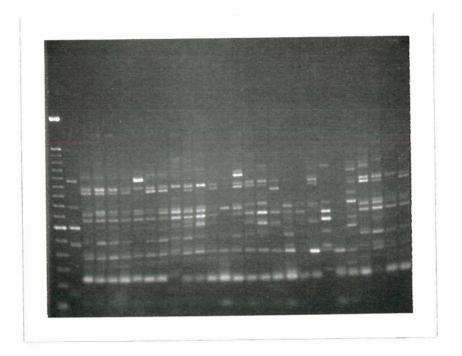


Figura 26. Eletroforese em gel de agarose de RAPD, de plantas representativas dos 26 cultivares testados com o "primer" Operon Technologies G 5, sendo a 1º canaleta o "marcador" de peso molecular conhecido 100 bpa DNA ladder, a segunda o branco e as seguintes os cultivares em ordem crescente de numeração.

#### 4.5.4 Chave dicotômica

Parent & Pagé (1995) propuseram uma chave dicotômica para identificar treze cultivares de morango do programa de certificação do estado de Quebec, Canada, com resultados obtidos da análise de RAPD. Os autores montaram a chave dicotômica baseando-se em dez "marcadores" pertencentes a dois "primers". Neste trabalho, baseando-se nos mesmos "marcadores" utilizadas no quadro de identificação, construímos uma chave dicotômica para a identificação dos vinte e seis cultivares analisados (Figura 27). Esta chave dicotômica esta inserida na página seguinte onde os números inteiros representam os cultivares e os zeros e uns significam ausência ou presença de fragmentos de DNA polimórficos de mesmo número de pares de bases ("marcadores"). Estes são indicados pelas designações com letras intercaladas por números, sendo a primeira letra e o primeiro número indicativos do "primer" e a segunda letra indicativa do "marcador".

Alguns "marcadores" se destacaram, nesta chave dicotômica, pela importância na separação de cultivares. Assim, a presença da banda no "marcador" B19V separa os cultivares 'Guarani' e 'Princesa Isabel' dos demais. Outro "marcador" que separa dois cultivares dos demais é a presença da banda do "marcador" B8J, que distingue os cultivares 'Chandler' e 'Pajaro'. A banda do "marcador" B19M separa os cultivares 'Blackmore', 'Campinas' e 'Agf 80' dos demais, quando presente. A banda do "marcador" B19E, se presente, separa os cultivares 'Lassen', 'Dover', 'Reiko' e 'Oso Grande' de 'Mantiqueira', 'Obaira', 'Jundiai', 'Fern' e 'Selva' e, o mesmo "marcador" também separa 'Chandler' de 'Pajaro' e 'Blackmore' de 'Campinas' e 'Agf 80'. Outro "marcador" que se destaca é o B8O pois a presença da banda separa os cultivares 'Mantiqueira' e 'Obaira' de 'Jundiai' e 'Fern'.

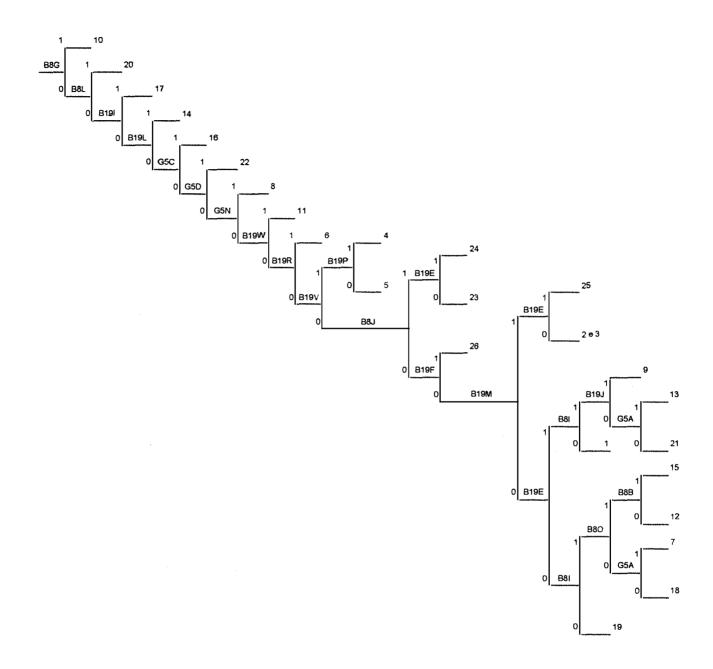


Figura 27. Chave dicotômica de identificação dos cultivares expressos pelos números inteiros de 1 a 26. O número "1" indica a presença da banda e o número "0" a ausência. As denominações com letras intercaladas de números são os "marcadores".

#### 4.6 Comparação de dados morfológicos, agronômicos e moleculares

O dendograma resultado da análise dos dados morfológicos e agronômicos, pelos índices de SM e J, separou os cultivares 'Dover', 'Guarani' e 'Princesa Isabel' entre si e dos cultivares 'Campinas' e 'Agf 80'. Os dendogramas obtidos com os índices SM e J foram iguais na disposição dos cultivares e diferentes no grau de similaridade entre eles. Assim, os resultados descritos são os obtidos do dendograma que utilizou o índice de Jaccard. Estes dados indicaram que os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' apresentaram 100 % de similaridade. Os cultivares 'Dover' e 'Princesa Isabel' demonstraram ser os mais semelhantes (50,0 % de similaridade), depois de 'Campinas' e 'Agf 80'. O cultivar 'Guarani' ficou mais próximo dos cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' (40,5 % de similaridade) e mais distante dos cultivares 'Dover' (27,0 % de similaridade) e 'Princesa Isabel' (23,7 % de similaridade). Os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' apresentaram 47,2 % de similaridade com o cultivar 'Princesa Isabel' e 39,5 % de similaridade com o cultivar 'Dover' (Tabela 20).

A disposição dos cultivares 'Campinas', 'Dover', 'Guarani', 'Princesa Isabel' e 'Agf 80' no dendograma obtido, através dos dados moleculares (Tabela 21), ficou igual ao dendograma obtido com os dados morfológicos e agronômicos, só diferindo pelos valores de similaridade. Graham et al. (1996) verificou que o grau de similaridade entre os cultivares, quando os dados eram obtidos do estudo de pedigree, eram menores que o grau de similaridade quando os dados eram obtidos da análise de RAPD. Assim, concluiu que, com os dados de pedigree, há diferenças grandes entre os cultivares que na verdade são semelhantes quando o estudo utiliza dados de RAPD.

Um terceiro dendograma foi construído com os dados morfológicos, agronômicos e moleculares unidos dos cinco cultivares e o resultado foi a mesma disposição de cultivares dos dendogramas obtidos quando os dados foram analisados separadamente, só diferindo pelos valores de similaridade (Tabela 22).

Gomes (1995) comparou linhagens de Sacharomyces cerevisae com dados moleculares e por características morfológicas. Em linhagens da indústria cervejeira os dendogramas obtidos de dados oriundos dos métodos de separação de cromossomos, eletroforese de proteínas e RAPD apresentaram a mesma formação de grupos. O autor também realizou análise conjunta dos dados, reunindo todos os métodos, e o dendograma obtido manteve a mesma formação de grupos.

A grande similaridade entre os cultivares 'Dover' e 'Princesa Isabel' no dendograma construído com dados morfológicos e agronômicos, era esperada pela semelhança que os dois cultivares apresentaram entre si nos dados morfológicos. No entanto, não há informações sobre origem que mostrem alguma relação entre o pedigree destes cultivares. A semelhança apresentada entre eles, pela análise dos dados moleculares podem indicar que as características morfológicas expressas na planta e as características do DNA, expressos pela análise de RAPD, deram resultados muito próximos. A mesma disposição dos cultivares no dendograma obtido pela análise das características morfológicas e agronômicas e no obtido pela análise molecular indica que os dados moleculares são coerentes.

Tabela 20. Grau de similaridade entre os cinco cultivares testados com os dados morfológicos e agronômicos na parte superior e dendograma dos 5 cultivares testados para as características morfológicas e agronômicas, pelo índice de Jaccard, na parte inferior. A numeração superior do dendograma indica o grau de similaridade sendo que o número um indica 100 % de similaridade, e os números indicam os cultivares, sendo L1.Dover, L2.Agf 80, L3.Campinas, L4.Princesa Isabel e L5.Guarani.

Cultivares	Dover Agf 80 Campin		Campinas	Princesa Isabel	Guarani	
Dover	1,000					
AGF 80	0,395	1,000				
Campinas	0,395	1,000	1,000			
Princesa Isabel	0,500	0,472	0,472	1,000		
Guarani	0,270	0,405	0,405	0,237	1,000	

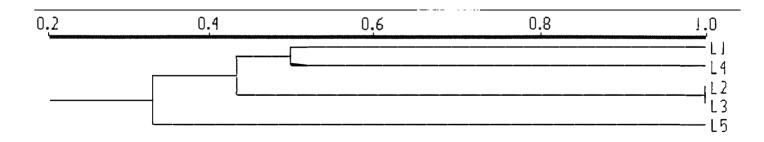


Tabela 21. Grau de similaridade entre os cinco cultivares testados com os dados moleculares na parte superior e dendograma dos 5 cultivares testados com os dados moleculares, pelo índice de Jaccard, na parte inferior. A numeração superior do dendograma indica o grau de similaridade sendo que o número um indica 100 % de similaridade, e os números indicam os cultivares, sendo L1.Dover, L2.Agf 80, L3.Campinas, L4.Princesa Isabel e L5.Guarani.

Cultivares	Dover	Agf 80	Campinas	Princesa Isabel	Guarani	
	1.000					
Dover	1,000					
AGF 80	0,586	1,000				
Campinas	0,586	1,000	1,000			
Princesa Isabel	0,750	0,606	0,606	1,000		
Guarani	0,467	0,548	0,548	0,545	1,000	

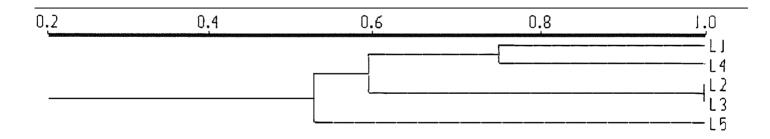
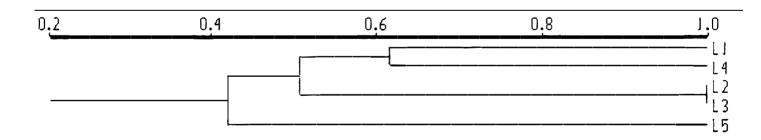


Tabela 22. Grau de similaridade entre os cinco cultivares testados com os dados morfológicos, agronômicos e moleculares na parte superior e dendograma dos 5 cultivares testados com os dados morfológicos, agronômicos e moleculares, pelo índice de Jaccard, na parte inferior. A numeração superior do dendograma indica o grau de similaridade sendo que o número um indica 100 % de similaridade, e os números indicam os cultivares, sendo L1.Dover, L2.Agf 80, L3.Campinas, L4.Princesa Isabel e L5.Guarani.

Cultivares	Dover	Agf 80	Campinas	Princesa Isabel	Guarani
Dover	1,000				
AGF 80	0,478	1,000			
Campinas	0,478	1,000	1,000		
Princesa Isabel	0,617	0,536	0,536	1,000	
Guarani	0,358	0,471	0,471	0,380	1,000
Guarani	0,338	0,471	0,471	0,380	1,00



#### 4.7 A caracterização de cultivares e o melhoramento genético

A caracterização de cultivares tem função destacada no melhoramento genético do morango, pois a introdução e o cruzamento entre clones com características de interesse e posterior seleção dos mais promissores são importantes métodos de melhoramento. Através da caracterização é possível analisar os materiais introduzidos e estimar a similaridade entre cultivares, o que dá parâmetros na escolha dos clones com função de progenitores em programas de melhoramento. Graham et al. (1996) também explica que há poucas informações sobre cultivares em bancos de germoplasma e o grau de parentesco entre eles.

A caracterização de cultivares pode se basear nas diferenças de morfologia ou em diferenças nas moléculas de proteínas ou DNA. Esta última, denominada molecular, quando utiliza o DNA, pode ser realizada pelos métodos de RFLP, RAPD, AFLP, minisatélites ou microsatélites. Desse modo, a escolha de qual método utilizar vai depender das condições e recursos existentes disponíveis ao melhorista considerando as vantagens e desvantagens de cada um.

Os resultados comparados entre os métodos de caracterização baseado em características morfológicas e agronômicas e o baseado em características moleculares deste trabalho, demonstrou que a disposição dos cultivares nos dendogramas são iguais, só diferindo o grau de similaridade entre eles (ítem 4.6). Ferreira & Grattapaglia (1996) comentam que "marcadores" morfológicos existem em menor número, o que limita a cobertura do genoma, além disso são específicos para um determinado tecido o que impede a sua determinação quando há apenas alguma parte vegetativa da planta disponível. Os "marcadores" moleculares tem a vantagem de serem, em geral, neutros em relação a efeitos fenotípicos e tem mínimo ou nulo efeito epistático ou pleiotrópico. A desvantagem dos "marcadores" moleculares é a necessidade de alguns equipamentos dependendo da técnica a ser utilizada e o conhecimento prévio de quais "marcadores" são os mais adequados a cultura que esta sendo utilizada. Considerando que a técnica de

RAPD é relativamente barata, e que neste trabalho já foram detectados os "primers" B8, com os "marcadores" de 1793, 886, 752, 657, 593 e 468 pares de base (pb), o "primer" B19 com os "marcadores" de 1255, 1179, 1062, 1028, 990, 944, 855, 763, 564 e 522 pb e o "primer" G5 com os "marcadores" de 976, 899, 843 e 264 pb, como adequados a cultura do morango, podemos inferir que é viável utilizar o método de caracterização molecular, por análise de RAPD, como outra opção a caracterização morfológica atualmente utilizada.

A caracterização molecular por análise de proteínas (isoenzimas) é interessante na cultura do morango, no entanto os trabalhos de Nehra et al. (1991) e Bringhurst et al. (1981), demonstraram que o número de "marcadores" possíveis é pequeno, confirmando a opinião de Ferreira & Grattapaglia (1996) que o número de locos isoenzimáticos disponíveis limita demais o poder desta técnica. Entre as técnicas que utilizam o DNA, Santos (1994) comenta que a técnica de RAPD é mais rápida, mais simples, requer menor quantidade de DNA e é mais barata que a técnica de RFLP, no entanto pode apresentar baixa repetibilidade nos resultados. Considerando que neste trabalho foram adotadas sugestões recomendadas por Levi et al. (1993) para obter dados com alta repetibilidade, podemos considerar a técnica de RAPD mais vantajosa. Ferreira & Grattapaglia (1996) comentam que as técnicas de minisatélites exigem um conhecimento prévio de qual sequência utilizar como sonda, e não se justifica o uso da técnica de microsatélite e AFLP em espécies com elevado nível de diversidade genética, detectável por outros métodos. O morango é uma dessas espécies, como ficou comprovado neste trabalho pela diversidade genética apresentada no dendograma. Por estas razões e pelos resultados obtidos através da análise de RAPD, que forneceu "marcadores" polimórficos suficientes para a identificação e formação de grupos de afinidade, esta técnica pode ser considerada a mais viável para a caracterização de cultivares de morango.

Neste trabalho os cultivares 'Dabreak', 'Korona', 'Florida Belle', 'Dr Morèrè', 'Sequoia' e 'Toyonoka' apresentaram um "marcador" específico, demonstrando como "marcadores" RAPD podem ser aplicados com o propósito de discriminação. No

entanto, é interessante que trabalhos posteriores com um número maior de "primers" determinem a absoluta especificidade dos "marcadores" para cada cultivar. Estes resultados foram eficientes para discriminar os vinte e seis cultivares estudados, assim novos trabalhos com outros cultivares vão permitir uma análise mais abrangente do germoplasma do morango cultivado e selvagem.

A similaridade entre os cultivares estimada por dados moleculares aliada a caracterização agronômica dá subsídios a escolha de parentais em programas de melhoramento. Assim, dependendo do enfoque do programa, a escolha de materiais com alta similaridade genética e características agronômicas de interesse podem ser úteis em programas que visam a transferência de características de um cultivar para outro. Por outro lado, em trabalhos com finalidade de se obter elevada variabilidade nos "seedlings" para posterior seleção, materiais distantes geneticamente podem ser mais interessantes.

Scott & Lawrence (1975) comentam que cultivares com combinações de caracteres desejáveis tem uso potencial em programas de melhoramento. Passos (1982) explica que alta produção em peso e frutos graúdos é uma combinação boa com vistas a utilização no melhoramento genético. Neste trabalho, os cultivares 'Campinas', 'Agf 80' e 'Dover' apresentaram esta característica. Passos (1982) estimou o valor da herdabilidade para os caracteres de produtividade e seus componentes e chegou a valores que variaram de 85% a 99%. Neste trabalho o valor da herdabilidade para os fatores produção de frutos, peso médio de frutos e número de frutos variou entre 65% e 95% no experimento de Atibaia e de 80% a 97% em Piracicaba.

Camargo & Passos (1993) comentam que a planta de morango é altamente heterozigota, condição mantida pelo sistema de propagação vegetativa. Assim, os "seedlings" resultantes dos cruzamentos de cultivares com características interessantes nem sempre apresentam o fenótipo esperado, no entanto algum "seedling" que se destacar pode ser rapidamente propagado vegetativamente. Apesar destas dificuldades, é possível indicar algumas cultivares com uso potencial em programas de melhoramento. O cultivar 'Guarani' pode ser utilizado como fonte dos caracteres de interesse industrial, pois tem "pescoço", cor interna com valores de luminosidade (L\*) de 35,81 e de croma (c\*) de 43,68 caracterizando cor interna vermelho intensa. Além disso, pela textura de

144,78 g, muito firme, pode ser também fonte desta característica. Os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80' se destacam pela elevada produção de frutos grandes com teores de sólidos solúveis de 8,44 graus Brix, indicando sabor adocicado. O cultivar 'Dover' tem produção elevada de frutos pesados e textura firme de 123,27 g.. O cultivar 'Princesa Isabel' pelos frutos grandes com pH de 3,84 e textura de 110,26 g, pode servir de fonte das características de fruto pesado, firme e pouco ácido.

Passos (1982) verificou que havia ampla variabilidade entre os cultivares estudados em seu trabalho e comentou que provavelmente grande parte era de origem genética. Neste trabalho foi demonstrado, pelos valores de similaridade obtidos nas análises moleculares, que há variabilidade entre os cultivares e, por estas análises terem como base o DNA, estas diferenças são de origem genética. Também verificamos que a maioria dos cultivares selecionados no Brasil se agruparam em dois grupos, assim como a maioria dos selecionados na California, com exceção do cultivar 'Reiko'. 'Campinas', 'Agf 80', 'Jundiai', 'Piedade' e 'Monte Alegre' formaram um grupo e 'Obaira' e 'Mantiqueira' outro. Nas californianas, os cultivares 'Lassen', 'Reiko', 'Chandler', 'Pajaro', 'Blackmore' e 'Seascape' formaram um grupo e 'Fern' e 'Oso Grande' outro. Desse modo, cruzamento entre cultivares do mesmo grupo possivelmente resultariam em materiais com baixa variabilidade nos "seedlings" e de grupos diferentes, alta variabilidade.

# 5 CONCLUSÕES

As características morfológicas com maior poder de discriminação foram o ângulo da base do folíolo e a razão entre o comprimento e a largura do folíolo. As agronômicas foram o peso, o teor de sólidos solúveis, o pH, a textura, a cor externa e interna e a presença de "pescoço" nos frutos. As moleculares foram os "marcadores" gerados pelos "primers" Operon B8, Operon B19 e Operon G5. Os resultados da análise de similaridade entre os cultivares foram equivalentes, quando utilizadas características morfológicas e agronômicas ou moleculares, indicando que os métodos de caracterização tiveram o mesmo poder de resolução na distinção dos cultivares.

As medidas de cor interna, textura e presença de "pescoço" possibilitaram indicar o cultivar 'Guarani' como apto para o uso industrial e 'Dover' como pouco apropriado. Em função das medidas de peso, teor de sólidos solúveis, pH e textura, os cultivares 'Campinas', 'Agf 80' e 'Princesa Isabel' são os mais adequados ao consumo "in natura", enquanto que 'Guarani' e 'Dover' são impróprios. Os dados de resistência a compressão, que estimam a textura dos frutos, comprovam que os cultivares 'Guarani', 'Dover' e 'Princesa Isabel' são os mais resistentes ao transporte e 'Campinas' e 'Agf 80' os menos resistentes.

As características da folha, do fruto e da planta do morangueiro, devido a serem pouco variáveis ao efeito de locais, revelaram-se adequadas para distinguir cultivares. Isto não aconteceu com a produção e componentes da produção, caracteres influenciados pelo efeito de locais.

Para os cultivares estudados, a análise de correlações entre caracteres revelou que os cultivares com frutos firmes tendem a apresentar frutos menos doces, mais ácidos e com cor externa vermelho intensa, indicando que a obtenção de cultivares para consumo "in natura" com frutos firmes, precisa romper algumas dessas correlações negativas.

Com os dados moleculares foi possível distinguir seis grupos de similaridade, sendo dois com cultivares selecionados no Brasil, um com 'Campinas', 'Agf 80', 'Piedade', 'Jundiaí' e 'Monte Alegre' e o outro com 'Obaira' e 'Mantiqueira', três com cultivares introduzidos, o primeiro com 'Lassen', 'Reiko', 'Chandler', 'Pajaro', 'Blackmore' e 'Seascape', o segundo com 'Fern' e 'Oso Grande' e o terceiro com 'Florida Belle' e 'Selva', sendo que o último grupo reuniu os cultivares 'Dover' e 'Dabreak' junto com 'Princesa Isabel'. Os cultivares 'Dover' e 'Princesa Isabel' também foram semelhantes quando os dados utilizados eram morfológicos e agronômicos mostrando que, possivelmente, 'Princesa Isabel' guarda relações de origem com este cultivar. Os cultivares 'Campinas' e 'Agf 80', analisados por ambos os métodos, não apresentaram diferenças, indicando que podem ser o mesmo cultivar.

## REFRÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBREGTS, E.E.; HOWARD, C.M.; CHANDLER, C.K. Defoliation of strawberry transplants for fruit production in Florida. **HortScience**, v.27, n.8, p.889-891, Aug. 1992.
- ARULSEKAR, S.; BRINGHURST, R.S.; VOTH,V. Inheritance of PGI and LAP isozymes in octaploid cultivated strawberries. Journal of the American Society for Horticultural Science, v.106, n.5, p.679-683, 1981.
- BETTI, J.A. Obtenção de material propagativo vegetal testado livre de vírus. In: CROCOMO, O.C. coord. Biotecnologia para a produção vegetal. Piracicaba: Fealq, 1991. p.145-169.
- BOXUS, P. The production of strawberry plants by *in vitro* micropropagation. **Journal** of the American Society for Horticultural Science, v.49, p.209-120, 1974.
- BRINGHURST, R.S.; GILL, T. Origin of Fragaria polyploids. II. Unreduced and double unreduced gametes. American Journal of Botany, v.57, n.8, p.969-976, Sep. 1970.
- BRINGHURST, R.S.; ARULSEKAR,S.; HANCOCK, J.F.; VOTH, V. Electrophoretic characterization of strawberry cultivars. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.106, n.5, p.684-687, Sep. 1981

- BUSSAB W. O.; MIAZAKI, E.S.; ANDRADE, D.F. Introdução à análise de agrupamentos. São Paulo: Associação Brasileira de Estatística. ABE, 1990. 105p.
- CAMARGO, L.deS. Novas variedades de morangueiro no estado de São Paulo. Piracicaba, 1960. 48 p. Tese (Doutorado) Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz', Universidade de São Paulo.
- CAMARGO, L.deS. Resultados experimentais obtidos com o morangueiro. O Agronômico, v.15, n.3/4, p.1-6, março-abril 1963.
- CAMARGO, L.deS; ALVES, S.; ABRAMIDES, E. Ensaio de variedades de morangueiro. **Olericultura**, v.3, p.115-142, 1963.
- CAMARGO, L.deS, ALVES, S., SCARANARI, H., ABRAMIDES, E. Ensaios de variedades de morangueiro. Revista de Olericultura, v.6, p.122-136, 1966.
- CAMARGO, L.deS; ALVES, S.; SCARANARI, H.J.; ABRAMIDES, E. Novos cultivares de morangueiro para a região do "alto piracicaba" no planalto paulista. **Bragantia**, v.27, n.10, p.117-133, mar. 1968a.
- CAMARGO, L.deS; BERNARDI, J.B.; S.; ALVES, S.; ABRAMIDES, E. Comportamento de novas variedades e híbridos de morangueiro, em Monte Alegre do Sul, no ano de 1966. **Bragantia**, v.27, n.13, p.115-167, abr. 1968b.
- CAMARGO, L.deS; ALVES, S.; IGUE, T. Comportamento de variedades de morangueiro na região de Monte Alegre do Sul. **Bragantia**, v.28, n.16, p.205-217, jun. 1969.

- CAMARGO, L.deS; PASSOS, F.A. Morango. In: FURLANI, A.M.C.; VIEGAS, G.P.
   (Ed.) O melhoramento de plantas no Instituto Agronômico. Campinas: Instituto Agronômico, 1993, v.1, cap.11, p.411-432.
- CAMARGO, L.deS; SCARANARI, H.J.; IGUE, T. Ensaio de cultivares e hibrídos de morangueiro, Jundiaí, 1971. **Bragantia**, v.33, n.4, p.33-42, abr. 1974.
- CAMPOS-TAVARES, M.H.S. Estudo do polimorfismo de DNA amplificado ao acaso em lentilha (*Lens culinaris* Medikus). Piracicaba, 1998. 60p. Tese (Doutorado) Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.
- CARVALHO A. I. F. Levantamento pedológico semidetalhado do município de Atibaia, SP. **Bragantia**, v.34, n.1, p.36-52, jan. 1975.
- CATI. http://www.cati.sp.gov.br, 27.10.98.
- CHANDLER, C.K.; STOFELLA, P.J.; ALBREGTS, E.E.; HOWARD, C.H. Stability of strawberry genotypes in the annual hill cultural system. **Hort Science**, v.26, n.11, p. 1409-1411, Nov. 1991.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: Imprensa universitária. 1994. 390 p.
- CUNHA, R.J.P.; BIAGGIONI, L.H.M. Comportamento de cultivares e híbridos de morangueiro. Horticultura Brasileira, v.8, n.2, p.25-26, nov. 1990.
- DAMIANO, C. Strawberry breeding program for southern Italy. Acta Horticulturae, Wageningen, v.265, n.1, p.167-168, Dec. 1989.

- DÁVALOS, I.P.A. Una solucion a largo prazo en problemas de la fresa, mejoramiento genetico, zamora e irapuato, zonas vanguardistas de Mexico. **PanAgfa**, v.65, n.7, p.31-33, set. 1979.
- DAVIS, T.M.; YU, H.; HAIGIS, K.M.; McGOWAN, P.J. Template mixing: a method of enhancing detection and interpretation of codominant RAPD markers. **Theoretical** and Applied Genetics, Berlim, v.91, n.4, p.582-588, Sep. 1995.
- DEMEKE, T.; ADAMS, R.P.; CHIBBAR, R. Potential taxonomic use of ramdom amplified polymorphic DNA (RAPD): a case study in *Brassica*. Theoretical and Applied Genetics, v.84, n.7/8, p.990-994, Sep. 1992.
- DIAS, J.S.; LIMA, M.B.; SONG, K.M.; MONTEIRO, A.A.; WILLIAMS, P.H.; OSBORN, T.C. Molecular taxomomy of Portuguese tronchuda cabbage and kale landraces using nuclear RFLPs. **Euphytica**, v.58, n.3, p.221-229, Jan. 1992.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, v.12, n.1, p.13-15, 1990.
- ESTADOS UNIDOS. Regents of the University of California. Variety: 'Oso Grande' syn C 43. Application n: 89/071. Plant Varieties Journal, v. 9, n.4, p.42, 1996a. /Resumo em CAB Abstracts on CD-ROM, 1996-4/98/
- ESTADOS UNIDOS. Regents of the University of California. Variety: 'Seascape' syn CN 49. Application n: 90/082. Plant Varieties Journal, v. 9, n.4, p.42, 1996b. /Resumo em CAB Abstracts on CD-ROM, 1996-4/98/

- EVANS, W.D. Guelph S01 synthetic octaploid strawberry breeding clone. **Hort** Science, v.17, n.5, p.833-834, Oct. 1982.
- FAEDI, W.; ARCUTI, P.; LOVATTI, L.; RECUPERO, S.; TURCI, P. Monografia di cultivar di fragola. Roma: Istituto Sperimentale per la Frutticoltura, 1988. 36 p. (ISF, publicações, 296).
- FAEDI, W.; ROSATI, P.; D'ERCOLE, N. The strawberry breeding program for north Italy. Acta Horticulturae, v.265, n.1, p.53-60, Dec. 1989.
- FAO. Production Year Book. Roma, v.50, p.169, 1997. (FAO. Statistics Series, 135).
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 2 ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1995. p. 220. (EMBRAPA-CENARGEN Documento 20).
- FERREIRA, V.L.P. Princípios e aplicações da colorimetria em alimentos. Campinas: ITAL, 1981. 85 p. (ITAL Instruções Técnicas, 19).
- FIDGORE, S.S.; KENNARD, W.C.; SONG, K.M. Assessment of the degree of restriction fragment length polymorphism in *Brassica*. Theoretical and Applied Genetics, v.75, n.1/2, p.833-840, May 1988.
- FILGUEIRA, F.A.R. Manual de Olericultura: cultura e comercialização de hortaliças. 2 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1982. v.2., cap.10, p.319-328: Rosáceas. Morango: um delicioso frutinho rasteiro.

- GARGANTINI, G. The strawberry production in Argentina. Acta Horticulturae, v.265, n.2, p.756, Dec. 1989.
- GIDONI, D.; ROM,M.; KUNIK, T.; ZUR, M.; IZSAK, E.; IZHAR, S.; FIRON, N. Strawberry-cultivar Identification using Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. Plant Breeding, v.113, n.4, p.339-342, Dec. 1994.
- GOMES, L.H. Avaliação de quatro métodos para a caracterização de leveduras. Piracicaba, 1995. 89 p. Disseratação (Mestrado) Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz', Universidade de São Paulo.
- GRAHAM, J.; McNICOL, R.J.; McNICOL, J.W. A comparision of methods for the estimation of genetic diversity in strawberry cultivars. **Theoretical and Applied Genetics**, v.93:, n.3 p.402-406, Aug. 1996.
- GRAHL, G.A.S.; TONINI, E.; CERVO, C. Ensaio de adaptação e produtividade de variedades de moranguinho (*Fragraria* hibrida). Revista do Centro de Ciências Rurais, v.4, n.2, p.165-168, jun. 1974.
- GROPPO, G.A.; TESSAROLI NETO, J.; BLANCO, M.C.S.G. A cultura do morangueiro. Campinas: CATI, 1997. 27 p. (CATI Boletim técnico, 201).
- HANCOCK, J.F.; LUBY, J.J. Genetic resources at our doorstep: the wild strawberries.

  Bio Science, v.43, n.3, p.141-147, Mar. 1993.
- HENZ, G.P.; REIFSCHNEIDER, F.J.B. Surto de antracnose em morangueiro no Distrito Federal. Horticultura Brasileira, v.8, n.1, p.28, maio 1990.

- HORTYNSKI, J.A.; ZEBROWSKA, J.; GAWRONSKI, J.; HULEWICZ, T. Factors influencing fruit size in the strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). **Euphytica**, v.56, n.1, p.67-74, July 1991.
- HOWARD, C.M.; ALBREGTS, E.E. 'Florida Belle' Strawberry. HortScience, v.11, n.5, p.519-520, Oct. 1976.
- HOWARD, C.M.; ALBREGTS, E.E. 'Dover' Strawberry. HortScience, v.15, n.4, p.540, Aug. 1980.
- HOWARD, C.M.; MASS, J.L.; CHANDLER, C.; ALBREGTS, E.E. Antracnose of strawberry caused by the *Colletotrichum* complex in Florida. **Plant Disease**, v.76, n.10, p.976-981, Oct. 1992.
- HUMAN, J.P.; EVANS, E.P. The strawberry production in South Africa. Acta Horticulturae, v.265, n.2, p.757, Dec. 1989.
- IBGE. http://www.sidra.ibge.gov.br, 27.10.98.
- ISHIKAWA, K., INAI, S.; NUNOMURA, O.; IKEHASHI, H. Genetic analysis of stunted growth by nuclear-cytoplasmic interaction in interspecific hybrids of *Capsicum* by using RAPD markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v.87, n.4, p.416-422, Dec. 1993.
- JAIN, A.; BHATIA, S.; BANGA, S.S.; PRAKASH, S.; LAKSHMIKUMARAN, M. Potential use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) techniche to syudy the genetic diversity in Indian mustard (*Brassica juncea*) and its relationship to heterosis.

  Theoretical and Applied Genetics, v 88, n.1, p.116-122, Apr. 1994.

- KENNARD, W.C.; SLOCUM, M.K.; FIDGORE, S.S.; OSBORN, T.C. Genetic analysis of morphological variation in *Brassica oleracea* using molecular markers.

  Theoretical and Applied Genetics, v.87, n.6, p.721-732, Jan. 1994.
- KESSELI,R.V.; OCHOA,O.; MICHELMORE,R.W.; Variation at RFLP loci in *Lactuca* spp. and origin of cultivated lettuce (*L. sativa*). **Genome**, v.34, n.3, p.430-436, June 1991.
- KESSELI, R.V.; PARAN, I.; MICHELMORE, R.W. Analysis of a detailed genetic linkage map of *Lactuca sativa* L.(lettuce) constructed from RFLP and RAPD markers. **Genetics**, v.136, n.4, p.1435-1446, Apr. 1994.
- KLEIN-LANKHORST, R.M.; VERMUNT, A.; WEIDE, R.; LIHARSKA, T.; ZABEL, P. Isolation of molecular markers for tomato (*L. esculentum*) using random amplified polymorphic DNA (RAPD). Theoretical and Applied Genetics, v.83, n.1, p.108-114, Nov. 1991.
- LEFEBVRE, V.; PALLOIX, A.; RIVES, M. Nuclear RFLP between pepper cultivars (Capsicum annum L.). Euphytica, v.71, n.3, p.189-199, Dec. 1993.
- LEMAITRE, R.; LINDEN, R. Le frasier à gros fruits. Description et identification de variétes. Gembloux: J. Duculot, S.A., 1968. 234 p.
- LEVI, A.; ROWLAND, L.J.; HARTUNG, J.S. Production of Reliable Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers from DNA of Woody Plants. HortScience, v.28, n.12, p.1188-1190, Dec. 1993.

- LIVNEH, O.; VARDI, E.; STRAM, Y.; EDELBAUM, O.; SELA, I.; The conversion of a RFLP assay into PCR for the determination of purity in a hibrid pepper cultivar. **Euphytica**, v.62, n.2, p.97-102, Mar. 1992.
- MALUSZYNSKA, J.; HESLOP-HARRISON, J.S. Physical mapping of rDNA loci in *Brassica* species. **Genome**, v.36, n.4, p.774-781, Aug. 1993.
- MADAIL, J.C.M.; GOMES, J.C.C.; DA F. PORTO, V.H. O declínio do morangueiro na região de Pelotas. Horti Sul, v.1, n.3, p.24-26, out. 1990.
- MAILER, R.J.; SCARTH, R.; FRISTENSKY, B. Discrimination among cultivars of rapeseed (*Brassica napus* L.) using DNA polymorphisms amplified from arbitrary primers. **Theoretical and Applied Genetics**, v.87, n.6, p.697-704, Jan. 1994.
- McGRATH, J.M.; QUIROS, C.F. Genetic diversity at isozyme and RFLP loci in *Brassica campestris* as related to crop type and geographical origin. **Theoretical** and Applied Genetics, v.83, n.6/7, p.783-90, Apr. 1992.
- MILLER, J.C.; TANKSLEY, S.D. RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. **Theoretical and Applied Genetics**, v.80, n.3, p.437-448, Sep. 1990.
- MISZCZAK, A.; FORNEY, C.F.; PRANGE, R.K. Development of aroma volatiles and color during postharvest ripening of 'Kent' strawberries. Journal of the American Society for Horticultural Scinece, Alexandria, v. 120, n.4, p.650-5, July 1995.

- NAGAI, V.; PASSOS, F.A.; SCARANARI, H.J.; MARTINS, F.P. Tamanho da parcela e número de repetições em experimentos com morangueiro. **Bragantia**, v.37, n.9, p.71-81, jul. 1978.
- NEHRA, N.S.; KARTHA, K.K.; STUSHNOFF, C. Nuclear DNA content and isozyme variation in relation to morphogenic potential of strabberry (*Fragaria x ananassa*) callus cultures. Canadian Journal of Botany, v.69, n.2, p.239-244, Feb. 1991.
- NIENHUIS, J.; SLOCUM, M.K.; DeVOS, D.A.; MUREN, R. Genetic similarity among *Brassica oleracea* genotypes as mensured by restriction fragment lenght polymorphisms. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.118, n.5, p.298-303, Dec. 1992.
- OLITTA, A.F.L. Efeito da irrigação por gotejo no desenvolvimento vegetativo e produção da cultura do morango (*Fragaria* sp). Piracicaba, 1980. 79 p. Tese (Livre Docência) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- PANDA, R.C.; KUMAR, A.O.; RAJA-RAO, K.G. The use of seed protein electroforesis in the syudy of the philogenetic relationships in chili pepper (*Capsicum* L.). Theoretical and Applied Genetics, v.72, n.8, p.665-670, Feb. 1986.
- PARAN, I.; KESSELI, R.V.; MICHELMORE, R.W. Identification of restriction fragment length polymorphism and random amplified polymorphic DNA markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce, using near-isogenic lines. **Genome**, v.34, n.6, p.1021-7, Dec. 1991.

- PARASKEVOPOLOU-PAROUSSI, G.; VASSILAKAKIS, M.; DOGRAS, C. Effects of temperature, duration of cold storage and packaging on postharvest quality of strawberry fruit. Acta Horticulturae, v. 379, p.337-44, June 1995.
- PARENT, J.G.; PAGÉ, D. Authentification des 13 cultivars de fraisier du programme de certification du Québec par l'analyse d'ADN polymorphe amplifié au hasard (RAPD). Canadian Journal of Plant Science, v.75, n.1, p.221-224, Jan. 1995.
- PASSOS, F.A. Caracterização de clones nacionais e introduzidos de morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.), visando o uso imediato na horticultura e o melhoramento genético. Piracicaba, 1982. 116 p. Dissertação (Mestrado) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- PASSOS, F.A. Morango. In: JORGE, J.A.; LOURENÇÃO, A.L.; ARANHA, C. (Ed.)

  Instruções agrícolas para o Estado de São Paulo. 5 ed. Campinas: Instituto
  Agronômico, 1990. p.153-154.
- PASSOS, F.A. Influência de sistemas de cultivo na cultura do morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) Piracicaba, 1997. 105 p. Tese (Doutorado) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- PASSOS, F.A.; GRIDI-PAPP, I.L.; CAMARGO, C.E.O. et alii. Descritores mínimos para o registro institucional de cultivares: MORANGO. Campinas: IAC, 1994. 8 p. (IAC Documentos, 40).
- POWELL, W.; PHILLIPS, M.S.; McNICOL, J.W.; WAUGH, R. The use of DNA markers to estimate the extent and nature of genetic variability in *Solanum tuberosum* cultivar. **Annals of Applied Biology**, v.118, n.2, p.423-432, Apr. 1991.

- PRINCE, J.P.; POCHARD, E.; TANKSLEY, S.D. Construction of a molecular linkage map of pepper and a comparison of synteny with tomato. **Genome**, v.36, n.3, p.404-417, June 1993.
- PRINCE, J.P.; TANKSLEY, S.D. Restriction fragment length polymorphism and genetic distance among mexican accessions of *Capsicum*. **Genome**, v.35, n.5, p.726-732, Oct. 1992.
- PRITTS, M.; LUBY, J. Stability indices for horticultural crops. Hort Science, v.25, n.7, p. 740-745, July 1990.
- QUEIROZ-VOLTAN, R.B.; JUNG-MENDAÇOLLI, S.L.; PASSOS, F.A.; SANTOS, R.R. Caracterização botânica de cultivares de morangueiro. **Bragantia**, v.55, n.1, p.29-44, jan. 1996.
- RICE JR. R.P. Effects of cultivar and environmental interactions on runner production, fruit yield, and harvest timing of strawberry (*Fragaria x ananassa*) in Zimbabwe. **Acta Horticulturae**, v.279, p.327-332, Sep. 1990.
- ROHLF, F.J. NTSYS-pc Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 1.7. Setanket, N.Y.: Exeter Software Publisher, 1992.
- SACKS, E.J.; SHAW, D.V. Color change in fresh strawberry fruit of seven genotypes stored at 0 ° C. HortScience, v.28, n.3, p.209-10, Mar. 1993.
- SAKAI, K. New summer crop cultivars (II) new cultivars registered by the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries in 1983. Strawberry. **Japanese Journal of Breeding**, v.34, n.1, p.123-124, 1984. /Resumo em **CAB Abstracts on CD-ROM**, 1984-86/

- SANGIACOMO, M.A.; SULLIVAN, J.A. Introgression of wild species into the cultivated strawberry using synthetic octaploids. **Theoretical and Applied Genetics**, v.88, n.3-4, p.349-54, June 1994.
- SANTOS, J.B. Emprego de marcadores moleculares no melhoramentode plantas. Horticultura Brasileira, v.12, n.2, p.282-286, nov. 1994.
- SCHAFFER, H.E.; SEDEROFF, R.R. Least squares fit of fragment size to gel mobility.

  Analytical Biochemistry, v. 115, p.113-122, 1981.
- SCOTT, D.H.; LAWRENCE, F.J. Strawberries. In: JANICK, J. & MOORE, N.M. Advances in fruit breeding. Indiana: Purdue University Press. 1975. p.71-92.
- SETZER, J. Atlas climático e ecológico do estado de São Paulo. São Paulo, Comissão Interestadual da Bacia do Paraná-Uruguai, 1966, 618 p.
- SHAW, D.V.; HANSEN, J.J. The inheritance of vegetative growth traits in strawberries (*Fragaria x ananassa*) grown at low temperatures and their relationship to field productivity. **Theoretical and Applied Genetics**, v.87, n.1/2, p.170-176, Oct. 1993.
- SHAW, D.V.; SACKS, E.J. Response in genotipic and breeding value to a single generation of divergent selection of fresh fruit color in strawberry. **Journal of the American Society for Horticultural Scinece**, v.120, n.2, p.270-3, Mar. 1995.
- SJULIN, T.; DALE, A. Genetic diversity of North American strawberry cultivar.

  Journal of the American Society for Horticultural Science, v.112, n.2, p.375-385,

  Mar. 1987.

- SMITH, O.S.; SMITH, J.S.C.; BOWEN, S.L.; TENBORG, R.A.; WALL, S.J. Similarities among a group of elite maize inbreds as mensured by pedigree, F1 grain yield, grain yield, heterosis, and RFLPs. **Theoretical and Applied Genetics**, v.80, n.6, p.833-840, Jan. 1990.
- SOARES, M.H.G.; SOARES, J.A. Ensaio de competição de cultivares de morangueiro em Viamão. Agronomia Sulriograndense, v.10, n.2, p.241-246, 1974.
- STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.R. Principles and procedures of statistics with special references to the biological sciences. New York: Mc. Graw Hill book Co. Inc., 1960. 481p.
- SWARTZ, H.J.; GALLETTA, G.J.; ZIMMERMANN, R.H. Field performance and phenotypic stability of tissue culture-propagated strawberries. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 106, n.5, p.667-673, 1981.
- TANKSLEY, S.D.; YOUNG, N.D. RFLP mapping in plant breeding: New tools for an old science. **Biotechnology**, v.7, n.2, p.257-264, Feb. 1989.
- TESSAROLI NETO, J. Avaliação do potencial produtivo e de seus componentes em diferentes clones de morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.). Piracicaba, 1982. 82 p. Dissertação (Mestrado) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- TESSAROLI NETO, J. Influência de cobertura permeável e impermeável sobre o solo e planta na produção do morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.). Piracicaba, 1993. 112 p. Tese (Doutorado) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

- THOMAS, H. E.; GOLDSMITH, E.V. The Shasta, Sierra, Lassen, Tahoe and Donner strawberries. Berkeley: University of California, 1945. 90 p. (University of California. Bulletin, 690).
- THORMANN, C.E.; FERREIRA, M.E.; CAMARGO, L.; TIVANG, J.G.; OSBORN, T.C. Comparison of RFLP and RAPD markers to estimate genetic relationships within and amony cruciferous species. **Theoretical and Applied Genetics**, v.88, n.8, p.973-980, Sep. 1994.
- WILKIE S.E.; ISAAC, P.G.; SLATER, R.G. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers for genetic analysis in *Allium*. Theoretical and Applied Genetics, v.86, n.4, p.497-504, May 1993.
- WILLIAMS J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V.; DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v.18, n.22, p.6531-6535, Nov. 1990.
- WILLIAMS, C.E.; StCLAIR, D.A.; Phenetic relationships and levels of variability detected by RFLP e RAPD analysis of cultivated and wild accessions of *Lycopersicon esculentum*. **Genome**, v.36, n.3, p.619-630, June 1993.
- ZIMMERMAN, R.H. Micropropagation of temperate zone fruit and nut crops. In: DEBERGH, P.C., ZIMMERMAN, R.H. (Ed.) Micropropagation: Technology and Aplications. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1991. p.231-246.

# **APÊNDICE**

-

## LISTA DE TABELAS

	På	igina
1	Valores binários (zeros e uns) atribuídos aos cultivares e a respectiva denominação da característica qualitativa correspondente. A presença em 95% do material amostrado foi o parâmento utilizado para atribuir	
	a faixa a que pertence	153
2	Valores binários (zeros e uns) atribuídos aos cultivares e a respectiva faixa de valores correspondente nas características analisadas quantitativamente. A média da cultivar foi o valor utilizado para	
	atribuir a faixa a que pertence	154

Tabela 1. Valores binários (zeros e uns) atribuídos aos cultivares e a respectiva denominação da característica qualitativa correspondente. A presença em 95% do material amostrado foi o parâmento utilizado para atribuir a faixa a que pertence.

for	rma do	os dentes do folíolo	inflorescência protegida pelas folhas					
Campinas	01	0 intermediária	Campinas	100		pouco		
Dover	01	0 intermediária	Dover	100		pouco		
Guarani	01	0 intermediária	Guarani	010		regularmente		
Princesa	01	0 intermediária	Princesa	100		pouco		
Agf 80	01	0 intermediária	Agf 80	100		pouco		
cor da folha posição da inflorescência em relação a folhagen								
Campinas	001	verde escura	Campinas		010	abaixo		
Dover	011	verde média e verde es	scura Dover	eura Dover		ambas		
Guarani	110	verde claro e verde mé	edia Guarai	lia Guarani		abaixo		
Princesa	011	verde média e verde es	cura Princesa		010	abaixo		
Agf 80	011 verde escura		Agf 80	Agf 80		abaixo		
presença de "pescoço" tamanho do cálice em relação ao fruto								
Campinas 11 ausente e presente		Campinas 110		pequeno e médio				
Dover	10	ausente	Dover	Dover 011		e grande		
Guarani	01	presente	Guarani 110		pequeno e médio			
Princesa	11	ausente e presente	Princesa 011		médio e grande			
Agf 80	11 ausente e presente		Agf 80	Agf 80 110		pequeno e médio		

Tabela 2. Valores binários (zeros e uns) atribuídos aos cultivares e a respectiva faixa de valores correspondente nas características analisadas quantitativamente. A média do cultivar foi o valor utilizado para atribuir a faixa a que pertence.

razão comprimento / largura do folíolo				ângulo da base do foliolo (graus)				
Campinas	000	de 0.9601	a 0.9800	Campinas	111	de 120.01	a 130.00	
Dover	111	de 1.2001	a 1.4000	Dover	000	de 90.01	a 100.00	
Guarani	001	de 0.9801	a 1,0000	Guarani	111	de 120,01	a 130.00	
Princesa	011	de 1.0001	a 1.2000	Princesa	001	de 100.01	a 110.00	
Agf 80	000	de 0.9601	a 0.9800	Agf 80	111	de 120,01	a 130.00	
valor de o	e* para co	r externa		valor de c* para cor interna				
Campinas	111	de 32,01	a 36,00	Campinas	011	de 38,01	a 41,00	
Dover	011	de 28.01	a 32,00	Dover	000	de 32.01	a 35,00	
Guarani	000	de 20.01	a 24,00	Guarani	111	de 41,01	a 44.00	
Princesa	111	de 32,01	a 36,00	Princesa	001	de 35,01	a 38.00	
Agf 80	111	de 32.01	a 36.00	Agf 80	011	de 38.01	a 41.00	
textura dos frutos (g)				produção total de frutos				
Campinas	000	de 80,01	a 100,00	Campinas	111	de 6200,1	a 6600,0	
Dover	011	de 120.01	a 140.00	Dover	111	de 6200.1	a 6600.0	
Guarani	111	de 140,01	a 160,00	Guarani	011	de 5800,1	a 6200.0	
Princesa	001	de 100,01	a 120,00	Princesa	000	de 5000,1	a 5400.0	
Agf 80	000	de 80.01	a 100.00	Agf 80	111	de 6200.1	a 6600.0	
número de frutos				peso médio dos frutos (g)				
Campinas	111	de 681	a 740	Campinas	011	de 9,001	a 9,500	
Dover	011	de 621	a 680	Dover	111	de 9.501	a 10.000	
Guarani	111	de 681	a 740	Guarani	000	de 8,500	a 9,000	
Princesa	000	de 501	a 560	Princesa	111	de 9.501	a 10,000	
Agf 80	111	de 681	a 740	Agf 80	011	de 9.001	a 9.500	
teor de sólidos solúveis dos frutos				pH dos frutos				
	1 11	1 0 4						
Campinas	111	de 8.4	a 8.8	Campinas	011	de 3.71	a 3.80	
Dover	000	de 6.9	a 7.3	Dover	001	de 3.61	a 3.70	
Guarani	000	de 6.9	a 7.3	Guarani	000	de 3.51	a 3.60	
Princesa	001	de 7.4	a 7.8	Princesa	111	de 3.81	a 3.90	
Agf 80	111	de 8.4	a 8,8	A2f 80	011	de 3.71	a 3.80	