

Seleção de mutantes espontâneos de macieira





Governador do Estado
João Raimundo Colombo

Vice-Governador do Estado
Eduardo Pinho Moreira

**Secretário de Estado da
Agricultura e da Pesca**
Moacir Sopelsa

Presidente da Epagri
Luiz Ademir Hessmann

Diretores

Ivan Luiz Zilli Bacic
Desenvolvimento Institucional

Jorge Luiz Malburg
Administração e Finanças

Luiz Antonio Palladini
Ciência, Tecnologia e Inovação

Paulo Roberto Lisboa Arruda
Extensão Rural



ISSN 0100-7416
Março/2018

BOLETIM TÉCNICO Nº 183

Seleção de mutantes espontâneos de macieira

Ivan Dagoberto Faoro



Empresa de Pesquisa Agropecuária
e Extensão Rural de Santa Catarina

Florianópolis
2018

Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri)
Rodovia Admar Gonzaga, 1347, Caixa Postal 502, Itacorubi
88034-901 Florianópolis, SC, Brasil
Fone: (48) 3665-5000, fax: (48) 3665-5010
Site: www.epagri.sc.gov.br

Editado pelo Departamento Estadual de Marketing e Comunicação (DEMC).

Editoria técnica: Lucia Morais Kinceler e Márcia Cunha Varaschin

Revisão textual e padronização: Laertes Rebelo

Assessor técnico-científico: Alexander de Andrade

Arte final: Victor Berretta

Foto da capa: Ivan Dagoberto Faoro (planta de macieira com ramos suscetíveis e ramo mutante resistente à doença mancha foliar de *Colletotrichum*, em Fraiburgo, SC, 2017)

Primeira edição: março de 2018

Tiragem: 600 exemplares

É permitida a reprodução parcial deste trabalho desde que citada a fonte.

Ficha catalográfica

FAORO, I.D. **Seleção de mutantes espontâneos de macieira**. Florianópolis, 2018. 40p. (Epagri. Boletim Técnico, 183).

Mutação; Resistência; Seleção; Melhoramento genético

ISSN 0100-7416

O

Autor

Ivan Dagoberto Faoro

Engenheiro-agrônomo, DSc

Epagri/Estação Experimental de Caçador

Rua Abílio Franco, 1500, Caixa Postal 591, 89501-032, Caçador, SC

Fone: (49) 3561-6835

E-mail: faoro@epagri.sc.gov.br

APRESENTAÇÃO

O documento aborda a aplicação da mutação no melhoramento genético de macieira para a obtenção de novos genótipos e sua importância para o desenvolvimento da fruticultura.

Os conteúdos aqui inseridos apresentam certo ineditismo na literatura nacional ligada ao melhoramento genético, tanto pela abrangência como pela profundidade, aliado à forma didática como são apresentados, transformando um assunto complexo em algo de fácil compreensão. Isso inclui informações detalhadas de onde e como ocorrem as mutações e os diversos métodos para a seleção de mutantes que podem resultar em novos cultivares.

Atualmente, os cultivares de macieira mais plantados no Brasil e que respondem por cerca de 93% da produção nacional são mutantes espontâneos dos cvs. Gala e Fuji, demonstrando a importância dessa obra.

Portanto, desejamos uma boa leitura.

A Diretoria Executiva

SUMÁRIO

Introdução.....	9
Seleção de mutantes resistentes.....	11
Alterações genéticas de ponto provocadas pela mutação: um exemplo	11
Locais de ocorrência das mutações	13
Identificação de mutações	21
Métodos de seleção de mutantes	22
Testes de novos genótipos mutantes e plantios comerciais	27
Conclusões	31
Referências.....	33

Introdução

A macieira (*Malus x domestica*) é originária da região situada entre o oeste da China e a Rússia, sendo seu ancestral selvagem a espécie *Malus sierversii* (HANCOCK, 2014). A região de diversidade abrange o Centro Asiático Central (VALOIS et al., 2001), envolvendo a China, Coreia, Cáucaso, Manchúria, Japão e parte da Europa (ZOHARY & HOPF, 1994). Foi domesticada no norte da China (HARLAN, 1992) e é cultivada há mais de 5 mil anos.

No processo evolutivo natural de especiação e no de seleção artificial realizada pelos humanos, a diversidade foi aumentando e foram surgindo diversos genótipos com resistência genética a diversas doenças, com diferentes tamanhos, formatos e cor de frutos, além de diversos hábitos de crescimento e de vigor da planta, dentre outras características agrônomicas. Isso, dentro dos processos de melhoramento genético exercido pelo homem, possibilita a seleção e a obtenção de novos cultivares comerciais de macieira.

Os processos empregados no melhoramento genético praticado pelo homem, são:

a) *Introdução de novos cultivares*: processo utilizado com os cvs. Gala e Fuji, vindos respectivamente da Nova Zelândia e do Japão e hoje os mais plantados no Brasil;

b) *Melhoramento genético convencional*: cruzamento manual dirigido envolvendo dois genótipos, cujo resultado gerou, por exemplo, as macieiras cvs. Fred Hough, Gala, Fuji, Daiane, Monalisa e Venice;

c) *Engenharia genética ou transgenia*: processo onde são inseridos genes desejáveis em um cultivar de alto valor comercial, geralmente utilizando como veículo *Agrobacterium* spp. ou a biobalística (BORÉM & SANTOS, 2003). Até o momento, não existe no Brasil cultivar de macieira de uso comercial obtido através desse método devido à rejeição da população para o consumo de plantas transgênicas. O mesmo ocorre em alguns países, tais como os porta-enxertos 'Malling 26' para resistência à doença Fogo Selvagem ocasionada por *Erwinia amilovora*, e uma seleção de 'Marubakaido' (*Malus prunifolia*) para indução de porte ananizante da planta (IGARASHI et al., 2016).

d) *Mutação espontânea ou induzida*: há alteração não programada no DNA da planta, seja modificando, retirando ou inserindo pares de base. São exemplos de macieiras obtidas por mutação espontânea, a partir do cv. Gala: Maxi Gala, Baigent (= Brookfield*) e Royal Gala; e a partir do cv. Fuji: Fuji Suprema e Fuji Precoce.

Considerando todos os processos de melhoramento genético citados anteriormente, a seleção de mutantes espontâneos pode ocorrer nas plantas de todos os cultivares lançados, o que permite selecionar genótipos de alto valor comercial com novas características agrônomicas desejáveis. Tal situação geralmente induz à substituição

do cultivar original lançado pelo seu mutante natural. Esse fato é comum na macieira. No Brasil, os maiores exemplos ocorrem com ‘Gala’ e ‘Fuji’, cujos cultivares originais não mais são plantados, mas somente seus mutantes, tais como ‘Maxi Gala’, ‘Baigent’ (=‘Brookfield’), ‘Royal Gala’ e ‘Fuji Suprema’.

A importância econômica das plantas mutantes na produção de alimentos é reconhecida, seja para uso direto, seja servindo como genitor de novos cultivares (AHLOOWALIA et al, 2004). No Brasil, foram produzidas 1.144.814 t de maçã na safra 2014/2015. Dessa quantidade, cerca de 93% é oriunda de clones mutantes dos grupos ‘Gala’ e ‘Fuji’ e 53,4% dessa produção foi obtida em Santa Catarina (FAORO, 2017). Nesse Estado, esses dois grupos produziram cerca de 97% do total de maçãs, resultando no Valor Bruto de Produção de R\$508 milhões (GOULART et al., 2017). Esses dados, por si só, indicam a importância da seleção de mutantes para a continuidade do cultivo dessas variedades de macieira.

O melhoramento genético, objetivando a seleção de plantas de macieira mutantes, é relativamente rápido, pois mesmo as plantas sendo altamente heterozigotas, podem facilmente ser multiplicadas via enxertias ou cultura de tecidos, produzindo assim milhares de clones com o mesmo genótipo (HARTEN, 1998).

É importante que não só os pesquisadores e professores conheçam as metodologias para a seleção de mutantes, mas também os profissionais que atuam na assistência técnica e na extensão rural, além dos produtores rurais. São eles que, no convívio diário na condução dos pomares, detêm maior chance para a observação de qualquer alteração positiva nas plantas. Quando isso ocorre, é importante comunicar a pesquisa ou então iniciar o processo de seleção.

Esse trabalho objetiva transmitir informações sobre o processo de mutação e as formas de seleção para a obtenção de genótipos melhorados que propiciem a agregação de novas características positivas aos cultivares já lançados, gerando, em consequência, maior valor comercial e/ou redução do custo de produção.

Seleção de mutantes resistentes

Mutação é toda alteração súbita do material genético não causada por recombinação ou segregação gênica. Mutantes são indivíduos portadores de mutação que podem ser identificadas fenotipicamente ou por marcadores moleculares.

A mutação é espontânea quando ocorre espontaneamente na natureza. Ela pode ser induzida por radiação (p. ex. Raio X), por produtos químicos (p. ex. colquicina) e por inserção de DNA mediante transformação ou inserção de T-DNA ou pela ativação de elementos de transposição (FORSTERA & SHU, 2011). Ela é a fonte básica da existência de variabilidade genética, matéria-prima para que exista evolução. Já a segregação mendeliana provoca o rearranjo dessa variabilidade genética criada, enquanto a seleção natural e a artificial, esta feita pela ação humana, selecionam e preservam as combinações gênicas mais bem adaptadas ou desejadas, respectivamente.

Há dois tipos de mutações que ocorrem na macieira: a) aquela que altera um ou poucos genes e pode produzir alguma diferença numa parte da planta, como por exemplo a mutação quimérica que ocorre nas células somáticas e induz alterações como a resistência à mancha foliar de *Glomerella* ou a mudança na cor dos frutos; b) a que altera a ploidia da planta, alterando, por exemplo, indivíduos diploides para triploides ou tetraploides. Aqui somente serão apresentados os assuntos ligados às mutações que ocorrem no primeiro caso e de forma espontânea nos pomares de macieira. Não será abordada a mutação induzida por agentes mutagênicos químicos, físicos ou biológicos.

Alterações genéticas de ponto provocadas pela mutação: um exemplo

Sendo o gene formado pela combinação das quatro bases (adenina: A, citosina: C, guanina: G e timina: T) que compõem o ácido desoxirribonucleico (DNA ou ADN), eles codificam os diversos tipos de ácidos ribonucleico (RNA ou ARN) e, de modo indireto, as proteínas que são formadas por uma cadeia de aminoácidos (Figura 1). Essas proteínas são os principais determinantes das funções biológicas e afetam a expressão das características da planta, seja em sua forma, tamanho, cor e fisiologia (GRIFFITHS et al., 2013), formando assim, através dos metabólitos, o fenótipo da planta. O rearranjo possível do DNA após uma mutação pode gerar um novo alelo, ou seja, uma diferente forma do gene e, em

consequência, do genótipo, o qual pode alterar a expressão fenotípica da planta. Na Figura 2 é apresentado um exemplo da síntese normal de aminoácido a partir do DNA do núcleo da planta. Ao final, o RNA mensageiro (mRNA) sintetiza os ribonucleídeos UCG e o pareamento se dá com o aminoácido serina (“Ser”), conduzido pelo RNA transportador (tRNA).

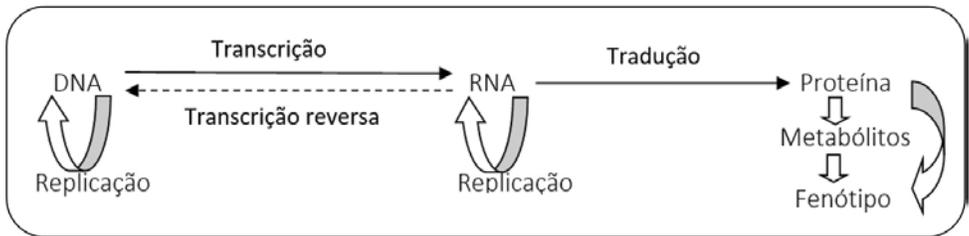


Figura 1. O dogma central da biologia

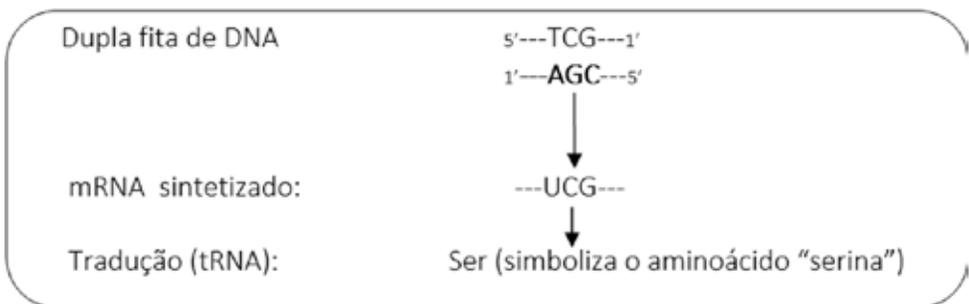


Figura 2. Acoplamento normal de aminoácido em fita do DNA normal

Na Figura 3 são apresentadas três possibilidades de mutação numa das três bases de uma das fitas do DNA da célula: a) Caso 1: “mutação sinônima ou silenciosa”, a qual mesmo ocasionando a alteração da base citosina (C) para guanina (G) no DNA, gerando o mRNA UCC, não altera o pareamento com o aminoácido serina (Ser); b) Caso 2: “mutação não sinônima ou de sentido errado”, a qual, por exemplo, altera a base guanina (G) para adenina (A) no DNA, gerando o mRNA UUG, o qual pareia com a Leucina (Leu) e não mais com Serina (Ser), alterando a sequência de aminoácidos na proteína formada (TEMPLETON, 2011); c) Caso 3: mutação “sem sentido”, ocasionando a alteração da base guanina (G) para timina (T) no DNA, gerando o mRNA UAG, o qual pareia com o aminoácido que codifica para o término da síntese da proteína/enzima (GRIFFITHS et al., 2013).

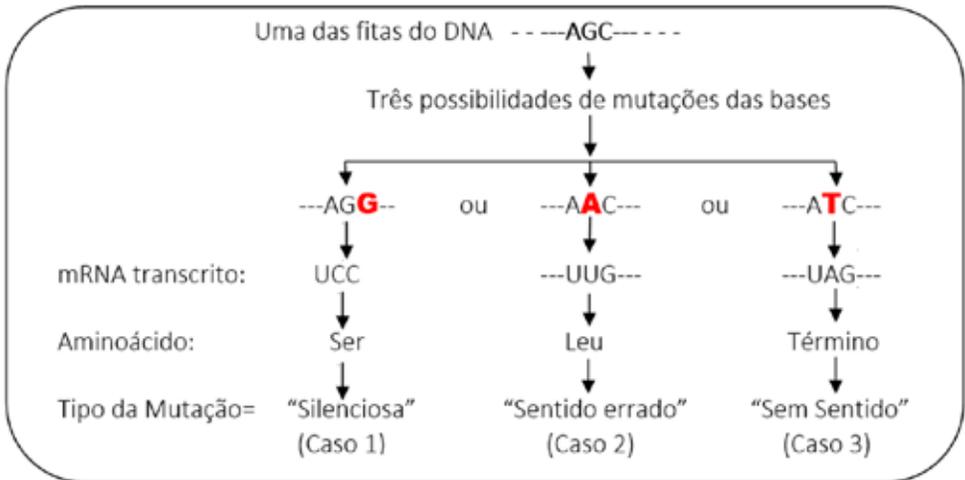


Figura 3. Três possibilidades de mutação de ponto a partir do DNA exemplificado na Figura 1

Locais de ocorrência das mutações

A mutação na planta pode ser classificada conforme o seu local de ocorrência:

a) Nuclear: ocorrem no DNA das células reprodutivas e são transmitidas de geração a geração.

b) Citoplasmática: ocorre nas estruturas que possuem DNA e estão dispersas no citoplasma das células, como as mitocôndrias e os cloroplastos (TAIZ & ZEIGER, 2004). Não sofre recombinação gênica e nem segregação, pois a herança é essencialmente materna: da genitora diretamente para a progênie (MIYAKI, 1996).

c) Somática ou Quimérica: ocorre nas células somáticas da planta, sem envolver as células reprodutivas. Se for profunda e atingir a camada L2 do meristema, há possibilidade de ser transmitida para as gerações posteriores.

A mutação somática ou quimérica é economicamente importante no cultivo da macieira, pois permite manter uma característica mutante de interesse econômico de forma permanente, mediante a propagação vegetativa. Para que isso ocorra, a mutação deve ser estável e deve passar por um processo que possibilite a detecção, o isolamento, a multiplicação para estudos de estabilidade, a seleção de clones mutantes para testes agrônomicos que evidenciem o ganho obtido e, finalmente, a multiplicação comercial. É possível a multiplicação assexual da parte mutante mediante a multiplicação vegetativa das gemas, o que se dá pela enxertia de ramos contendo essas gemas mutantes.

O crescimento dos ramos das plantas de macieira se dá através do desenvolvimento do meristema apical primário (Figuras 4 e 5), o qual mantém indefinidamente sua característica embrionária. Nele, existem as células-tronco que originam os diversos tipos de células especializadas que formarão os diferentes tecidos e órgãos da planta. Para isso, o meristema primário pode gerar diversos tipos de meristemas secundários para a geração de ramos, folhas, tecidos vasculares e gemas vegetativas e reprodutivas. A aparência do meristema apical é o de células estratificadas, composta por três camadas distintas, designadas como (TAIZ & ZEIGER, 2004):

- a) L1: camada mais externa, cuja divisão celular ocorre no sentido lateral e gera a epiderme dos frutos;
- b) L2: camada intermediária, cuja divisão celular ocorre no sentido lateral e gera alguns tecidos internos, como os órgãos reprodutivos e a hipoderme dos frutos;
- c) L3: camada interna, cuja divisão celular não segue uma orientação específica e gera tecidos internos.

Qualquer alteração genética não programada (mutação) ocorrida nessas três camadas pode alterar o fenótipo da planta, tais como o hábito de crescimento, a produção de frutos com diferentes colorações e a resistência à doença.

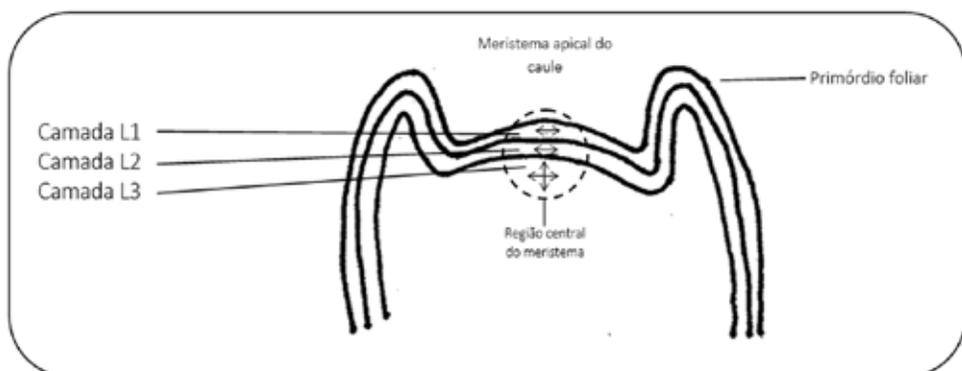


Figura 4. Desenho esquemático das três camadas do meristema apical dos ramos. Círculo tracejado indica a região central do meristema, onde estão as células tronco. (↔): direção do crescimento das células

Fonte: Taiz e Zeiger (2004); Geier (2011). Modificado pelo autor.

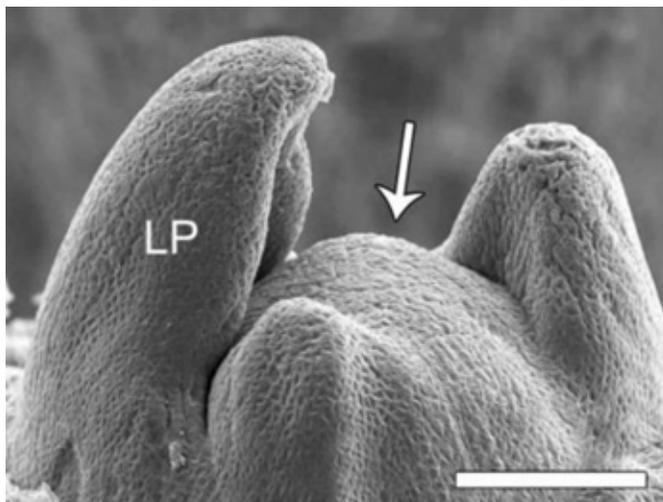


Figura 5. Desenvolvimento do meristema da inflorescência em gemas de macieira, em microscopia eletrônica de Varredura no Estádio 1 (iniciação floral): arredondamento do ápice do meristema apical (seta) e primórdio foliar (LP). Barra: distância de 100 μ m
Fonte: Francescatto (2014). (Autorizado pela autora)

Um aspecto de grande importância econômica, devido à preferência dos consumidores, é a cor vermelha da casca dos frutos da maçã. O controle genético da cor vermelha é controverso, apresentando alguns estudos com base na proposta do controle por uma série alélica ou mesmo por dois pares de genes complementares dominantes, os quais atuam tanto na intensidade da cor vermelha (genes A e B), enquanto um terceiro gene “L” atua na porção abrangida pela área avermelhada no fruto, definida como “blush” (WHITE & LESPINASSE, 1986). Outras hipóteses indicam o controle monogênico dominante para a síntese da antocianina (UBI, 2004). Devido à existência de correlação positiva entre a quantidade de cor vermelha sobre o fruto e a intensidade dessa cor, é possível que ambas essas características sejam controladas pelo mesmo mecanismo genético (WHITE & JOHNSTONE, 1991). Pela fácil detecção de mutantes, a característica da cor do fruto será aqui utilizada como modelo para melhor entender como ocorre o processo de mutação.

A pigmentação vermelha dos frutos é expressa de forma independente nas células da camada da epiderme e nas três a cinco camadas de células subepidérmicas da hipoderme do fruto. A intensidade de vermelho é afetada pelo ambiente, tais como sombreamento, radiação, ponto de colheita, dentre outros fatores. Quanto à temperatura, Pan e Shu (2007) observaram que o tempo de exposição e o nível de temperatura também

afetam a cor, sendo que a coloração vermelha mais intensa ocorre em temperaturas próximas a 20 °C.

A epiderme do fruto é derivada da camada L1 e a hipoderme é derivada da camada L2 do meristema apical (Figura 4), e somente essas duas camadas são responsáveis pela coloração da película dos frutos (DICKINSON & WHITE, 1986). Essa última estrutura, a hipoderme, tem maior participação ou, com raras exceções, é a única responsável para expressar a intensidade da cor vermelha dos frutos, a qual se deve à presença de antocianinas (flavonóide) nos vacúolos das células meristemáticas (PRATT, 1988; IGLESIAS et al., 2008; IGLESIAS et al., 2012), principalmente do pigmento cianidina-3-galactosídeo, responsável por cerca de 80% das cianidinas (UBI, 2004).

As mutações ocorridas na camada L2 apresentam maior probabilidade de serem transmitidas aos seus descendentes mediante a reprodução sexual, uma vez que os órgãos reprodutivos também são originados a partir da camada L2 do meristema (BROWN & MALONEY, 2003).

Existem duas formas para verificar se ocorreu ou não a herança de genes mutantes: uma é realizar cruzamentos dirigidos e verificar a segregação das progênies quanto a expressão da característica analisada; outra forma é utilizar marcadores moleculares para identificar se houve ou não alteração no gene da característica. No entanto, essa última análise exige grande acuidade, já que é muito difícil verificar alterações em um só gene da planta, ainda mais considerando que algumas vezes envolve a troca de alguns poucos pares de base do DNA da célula.

A análise de diversos mutantes do cv. Gala para maior intensidade da cor vermelha nos frutos mostrou que todos apresentavam percentagem semelhante de células coloridas na região da epiderme, camada essa originada da camada L1 do meristema apical. Mas, alguns deles apresentavam significativamente maior percentagem de células coloridas que 'Gala' original ou "*stand*" na região da hipoderme, região essa originada na camada L2 do meristema apical. Isso indicou que mutantes com mais que 35% de células coloridas na hipoderme diferem de 'Gala' original e podem produzir clones com frutos mais coloridos, como, por exemplo, os mutantes 'Imperial Gala', 'Mitchell B', 'Ten Hove III' e 'Desborough B'. Nos cultivares Imperial Gala e Regal Gala, a coloração avermelhada das células ficou restrita às segunda e terceira camada celular da hipoderme, enquanto 'Mitchell B' apresentou células avermelhadas até a quinta camada celular da hipoderme (Tabela 1) (DICKINSON & WHITE, 1986).

Quando a mutação química ocorre na primeira e/ou na segunda camada de células do meristema apical, designadas como camadas L1 e L2, pode haver a formação

de uma quimera mericlinal se for parcial, ou então uma quimera periclinal se afetar toda a camada (Figura 6).

Se a mutação mericlinal afeta somente uma parte da camada L2 do meristema apical, as gemas situadas neste local podem originar ramos com mutação periclinal “sólida” (MALUSZYNSKI et al., 2009) e geram plantas mutantes. O processo de seleção dessa mutação mericlinal deve levar em conta que as gemas situadas fora da região onde ocorreu a mutação não são mutantes e, por isso, não expressarão qualquer alteração.

Ao se detectar um ramo mutante, ele deve ser marcado com fita e, no processo de seleção, deve ser considerada a possibilidade de enxertar diversos segmentos desse ramo para possibilitar a seleção de gemas que originam ramos totalmente mutantes, separadas das plantas geradas de gemas parcialmente ou não mutantes. Tal situação, após lançar o novo cultivar, evitará a geração de problemas para o produtor de mudas e para o produtor rural, pois somente reproduzirão e plantarão plantas comprovadamente mutantes para a característica selecionada. Junto a isso, devem ser analisadas eventuais reversões naturais da mutação, a qual, teoricamente, ocorre em taxas muito pequenas: aproximadamente uma para cada 100.000 a 10.000.000 plantas produzidas.

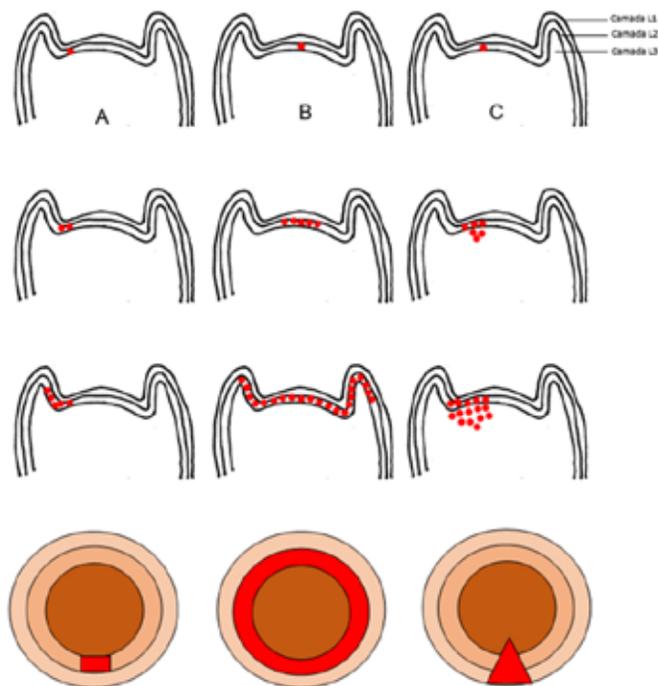


Figura 6. Desenho esquemático da ocorrência e evolução celular de quimeras somáticas (mutações), de cima para baixo: (A): mericlinal, (B): periclinal afetando a camada L2, (C): setorial afetando as camadas L1+L2+L3. (●): células mutantes

Fontes: Broertjes & Harten(1978); Ryugo (1988); Lespinasse (1995); modificado pelo autor.

Tabela 1. Distribuição da cor vermelha na epiderme e na hipoderme da casca dos frutos de alguns mutantes oriundos do cv. Gala.

Distribuição de células com cor vermelha/Genótipo			
Na epiderme		Na hipoderme	
Genótipos	Porcentagem de células coloridas (%)	Genótipos	Porcentagem de células coloridas (%)
Fulford A	13 a	Desborough B	38 a
Desborough A	10 ab	Ten Hove III	37 a
Hurangi B	6 abc	Mitchell B	35 a
Gala	6 abc	Imperial	35 a
Taylor	5 abc	Ten Hove II	34 ab
Mitchell A	5 abc	Dixon B	33 ab
Van Wvk	5 abc	Hurangin Striped	32 ab
Regal Gala	4 bcd	620 Unknown	32 ab
Hurangi Striped	4 bcd	Regal Gala	32 ab
Ten Hove IV	4 bcd	Hurangi B	32 ab
Ward	2 bcd	Fulford A	30 ab
Ten Hove I	2 bcd	Taylor	29 ab
Imperial (Q)	2 bcd	Hurangi A	29 ab
Dixon B	1 cd	Van Wyk	28 ab
Hurangi A	1 cd	Imperial (Q)	28 ab
Ten Hove V	1 cd	Dixon A	28 ab
Wairarapa	1 cd	Ten Hove V	28 ab
Scott	0 cd	Wairarapa	27 ab
Mitchell B	0 cd	Desborough A	27 ab
Desborough B	0 cd	Mitchell A	26 ab
Imperial	0 cd	Ten Hove I	25 ab
620 Unknown	0 cd	Ten Hove IV	24 ab
Ten Hove II	0 cd	Scott	24 ab
Ten Hove III	0 cd	Royal Gala	20 b
Dixon A	0 cd	Gala	20 b
Royal Gala	0 cd	-	-

Valores seguidos por letras diferentes diferem entre si pelo teste LSD a 5% de probabilidade.

Fonte: Dickinson & White (1986).

Pode ocorrer gemas parcialmente mutantes que produzem ramos parcialmente mutantes. Tal possibilidade explica porque mutações mericlinais podem ser instáveis (BROERTJES & HARTEN, 1988) e, no processo de seleção de mutantes essa possibilidade deve ser levada em consideração. Na Figura 7 é apresentada essa situação, podendo ocorrer três situações: *Situação 1*) Gema parcialmente mutante que quando enxertada poderá dar origem a ramo parcialmente mutante. As gemas produzidas na camada mutante produzirão folhas resistentes à doença ou frutos mais avermelhados, enquanto as gemas produzidas na região não mutante continuarão produzindo folhas suscetíveis ou frutos iguais aos da planta original; *Situação 2*) Gemas totalmente mutantes por que foram totalmente formadas na região mutante e geram somente plantas mutantes resistentes à doença ou com todos os frutos mais avermelhados; *Situação 3*) Gemas não mutantes formadas fora da região mutante, as quais geram plantas suscetíveis ou frutos iguais ao da planta original.

Outro caso se dá quando ocorre mutação periclinal, alterando toda a camada L2 da gema apical. Nessa situação, todas as gemas produzidas a partir do ramo mutante serão também mutantes (Figura 8) e há possibilidade de repassarem a mutação para as gerações seguintes quando propagadas assexualmente (enxertia de segmentos de ramos com gemas mutantes), ou sexualmente caso a mutação também tenha afetado as células que formarão os órgãos reprodutivos.

Deve ser levado em consideração que algumas vezes a mutação periclinal pode ser revertida naturalmente (BROWN & MALONEY, 2003), voltando à produção de plantas com características iguais à planta original, ou seja, sem resistência a doenças ou com menor área e intensidade da coloração vermelha sobre os frutos. Embora seja um fato raro de ocorrer, é possível observar em pomares comerciais algumas plantas com essas reversões, as quais devem ser erradicadas e substituídas por plantas que apresentem a mutação desejável.

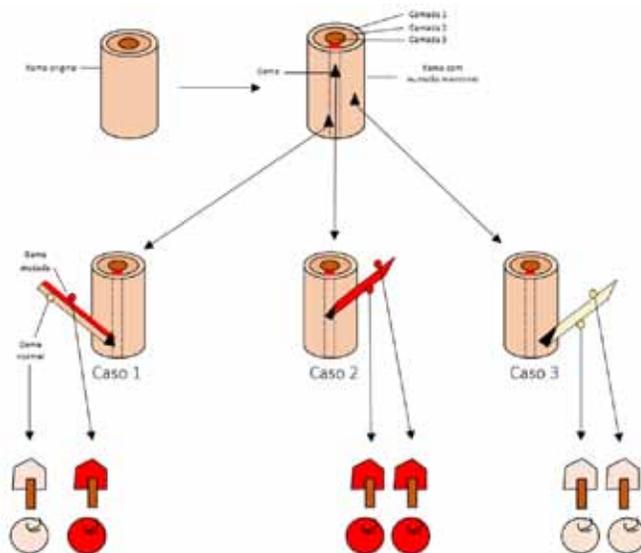


Figura 7. Desenvolvimento do tecido com mutação mericlinal (cor vermelha) na camada L2 com mutação para resistência à doença (☞) ou cor mais avermelhada do fruto (●)

Fonte: Broertjes & Harten (1978), modificado pelo autor.

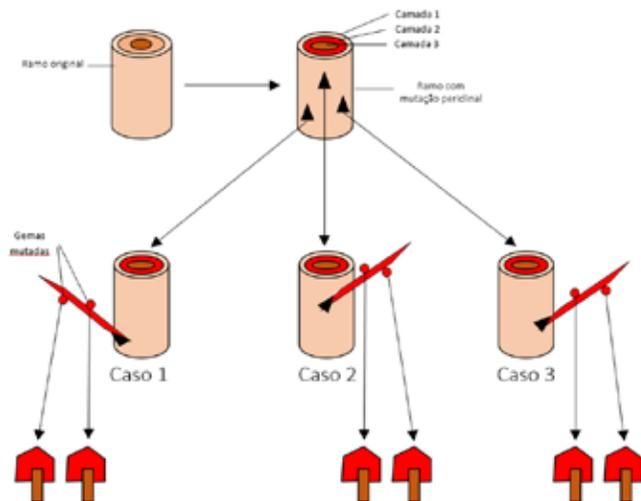


Figura 8. Desenvolvimento do tecido com mutação periclinal total na camada L2 (cor vermelha) com mutação para resistência à doença ou cor mais avermelhada do fruto, gerando, nos três casos, somente gemas e plantas mutantes estáveis

Fonte: Broertjes & Harten (1978), modificado pelo autor.

Identificação de mutações

Em pomares, as mutações são facilmente identificáveis quando provocam alteração visíveis de alguma parte da planta. Os melhores exemplos são as alterações da coloração do fruto (Figura 9), intensidade de russeting, hábito de crescimento da planta (HAUAGGE & BRUCKNER, 2002) e ocorrência de ramos com resistência a doenças (Figura 10).

Ao identificar qualquer alteração anormal ao desenvolvimento das características do cultivar plantado, deve-se marcar o ramo com uma fita onde ocorre a alteração, principalmente marcando as gemas ou o segmento de gemas no qual ocorreu a provável mutação. Durante o período da safra, esse ramo continuará crescendo e então, na saída do próximo inverno e antes da brotação da planta, deve ser coletado o segmento mutante do ramo para proceder as etapas do processo de enxertias, objetivando a identificação e isolamento da(s) gema(s) mutante(s). Algumas vezes, quando o ramo é muito pequeno, pode-se optar por deixar o ramo crescer por mais uma safra, aproveitando para verificar se a mutação se repete e então, no inverno seguinte, procede-se a coleta do ramo ou parte desse para enxertias.

Mesmo após a coleta do ramo mutante, é importante deixar marcado o ramo na planta onde a mutação foi originada, objetivando observar se a mutação se repete ao longo dos anos ou mesmo para futuras coletas de gemas mutantes.



Figura 9. Mutação em macieira: (A): planta do cv. Star Gala com frutos mais avermelhados mutantes na parte superior, em Fraiburgo, SC; (B): no primeiro plano, frutos do cv. Imperatriz mutantes para cor vermelho escuro, enquanto no segundo plano aparecem os frutos com a coloração natural do cultivar, em Caçador, SC (Fotografias: Ivan D. Faoro).



Figura 10. Mutações em macieira: (A): numa mesma planta do cv. Maxi Gala observa-se ramos mutantes sem sintomas e outros ramos não mutantes com sintomas de mancha foliar de *Glomerella*, em Fraiburgo, SC; (B): planta do cv. Castel Gala com parte dos ramos contendo folhas não infectadas pela mesma doença, em Itaiópolis, SC (Fotografias: Ivan D. Faoro).

Métodos de seleção de mutantes

A metodologia aqui citada é para uso de seleções de partes de plantas cultivadas em pomares comerciais que apresentam alguma possível mutação e não necessariamente para a seleção de plantas originadas de ramos artificialmente irradiados. Após a coleta do ramo onde a mutação foi observada, esse deve seguir um processo de seleção, envolvendo a multiplicação e avaliação de novos ramos produzidos a partir de suas gemas.

Na seleção de genótipos mutantes de frutíferas propagadas vegetativamente, como a macieira, é utilizada uma simbologia para determinar qual geração se encontra o material, a qual é formada pelas letras “M_xV_x”. O valor de “x” aumenta, respectivamente, de forma unitária a cada nova mutação ocorrida e a cada geração de seleção assexual ou a novo ciclo de crescimento vegetativo, como mais adiante será mostrado. Essa simbologia difere da adotada por plantas multiplicadas via sexual, como ocorre com os cereais (arroz, milho, trigo...), onde somente é adotada a letra “M_x”, aumentando, neste caso, de forma

unitária o valor de “x” a cada nova geração obtida via reprodução sexual natural, dentro do processo de seleção (ALLARD, 1971; MALUSZYNSKI et al., 2009).

Tanto para frutíferas como para cereais, a geração M_1 é a geração na qual foi realizado o tratamento mutante, no caso de mutação induzida, ou então é a geração na qual foi detectada a primeira variante mutante na planta do cultivar original. Caso novas gerações mutantes surjam a partir do mutante original M_1 , cada nova geração descendente será designada como M_2 , M_3 ... (Tabela 2).

Por exemplo, o cultivar original de macieira ‘Gala’ foi lançado em 1962 na Nova Zelândia, obtido a partir do cruzamento entre ‘Kidd’s Orange Red’ x ‘Golden Delicious’. Portanto, esse cultivar ‘Gala’ original ou “stand” é designado como “ M_0 ”, ou seja, é a geração inicial zero de uma variedade não mutante. Após alguns anos foi selecionado um novo cultivar mediante a seleção de uma primeira mutação espontânea do cv. Gala, sendo essa designada como ‘Royal Gala’ (geração “ M_1 ”). Desta primeira mutação M_1 , ou seja, a partir desse novo cultivar Royal Gala, após alguns anos foi selecionado um outro cultivar resultante de mutação espontânea, designado como ‘Baigent’ (=‘Broockfield™), o qual pertence à geração “ M_2 ”. Desse, foi selecionada uma nova mutação espontânea, o cv. Stark® GrandGala (= Caitlin), o qual é a geração mutante “ M_3 ”, e assim por diante (Tabela 2).

O símbolo “ V_x ” é somente utilizado durante o processo de seleção de um mutante e se refere a cada geração vegetativa de crescimento de um novo ramo após uma poda ou enxertia, avaliado para testar se há repetição (estabilidade) da expressão da mutação. O valor de “x” aumenta unitariamente a cada nova poda ou enxertia, ou seja, a cada nova fase de crescimento vegetativo de uma gema.

A metodologia para a seleção de mutantes apresenta algumas variantes, conforme pode ser observado nas Figuras 12, 13 e 14. O critério básico utilizado é que a partir do ramo onde foi observada a mutação durante a safra (M_xV_1), procede-se a enxertia (pode ser por dupla fenda) de pelo menos 11 segmentos sequenciais com duas gemas cada, quando possível, gerando pelo menos 11 novas plantas (Figuras 12 e 13). Este processo é feito no inverno. Ou, procede-se a enxertia por borbulhia, enxertando uma única gema/planta (Figura 14), cujo processo é feito na primavera ao verão, quando a casca da planta permite fácil separação entre o córtex e o lenho (LEITE et al., 2002). Nos dois casos, cada gema deve originar um novo ramo (Figura 11) para permitir observações e avaliações da expressão e da estabilidade da mutação. As podas dos ramos são executadas durante o inverno e antes da planta brotar.



Figura 11. Brotação de segmentos de ramos mutantes enxertados em planta de macieira: (A e B): brotação de duas gemas/segmento; (C): baixo, (D): mediano e (E): igual vigor de crescimento de um dos dois ramos

Fotografias: Ivan D.Faoro

O plantio de mudas com os ramos mutantes deve se dar num mesmo local, devendo ter como testemunha comparativa o cultivar que originou a mutação e o melhor cultivar plantado pelos produtores. Caso seja intenção a proteção da seleção como uma nova cultivar, a condução dessas plantas deve ser à campo para que elas expressem melhor as suas características fenotípicas, além de que o teste de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade solicitado pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares, órgão do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, exige tal situação, conforme a Lei 9.456 de 25 de abril de 1997. Quando não existe essa possibilidade, devem ser geradas, o mais rápido possível, pelo menos 11 novas plantas oriundas da mutação para os testes citados acima.

Tabela 2. Três gerações (M₁, M₂ e M₃) de mutantes do cv. Gala (M₀) para cor do fruto e suas reações de resistência à doença mancha foliar de Glomerella.

Cultivar original	Primeira geração mutante (M ₁)	Segunda geração mutante (M ₂)	Terceira geração mutante (M ₃)	Reação de resistência dos mutantes à mancha foliar de glomerella*
Gala ⁽¹⁾ (Kidd's Orange x Golden Delicious; Nova Zelândia, 1960)	Royal Gala ⁽¹⁾ (=Red Gala, Tenroy Royal Gala™; Nova Zelândia, 1974)	Brokfield Gala™ ⁽⁵⁾ (= Baigent; Nova Zelândia, 1994)		Big Red Gala: S Brockfield (Baigent): S Buckeye Gala: S Castel Gala: S Crimson Gala: S Galaxy: S Gala (híbrido original): S Gala Gala: S Gala Mitchgla (=Mondial Gala): S Gala Perathoner: S Imperial Gala: S Jugala: S Lisgala: S Lydia's Gala: S Maxi Gala: S Pacific Gala (=Olsentwo): S Premier Star: S Regal Gala: S Royal Gala: S Seleção SG14M3: R Star Gala: R Stark® Galaxy Gala (=Caitlin): S Stark GrandGala (=Kidle): S Stark UltraRed: S Trecos: S Twin Bee Gala: S Ultima Gala: S
		Star Gala ⁽²⁾ (Brasil, 2000)	Seleção SG14M3	
		Galaxy ⁽¹⁾ (Nova Zelândia, 1988)		
		Pacific Gala™ ⁽⁵⁾ (=Olsentwo; EUA, 1989)		
		Stark® Galaxy Gala ⁽⁵⁾ (= Kiddle; Nova Zelândia, 1989)	Stark®GrandGala ⁽⁵⁾ (= Caitlin; EUA, 1992)	
		Stark® UltraRed™ ⁽⁵⁾ (Obrogada; EUA, 1992)		
		Crimson™ Gala ⁽⁵⁾ (EUA, 1992)		
		Gale Gala™ ⁽⁵⁾ (EUA 1996)		
		Twin Bee™ Gala ⁽⁵⁾ (EUA, sem data)		
		Gala Mitchgla ⁽⁷⁾ (=Mondial Gala®; Nova Zelândia, 1987)	Gala Perathoner ⁽¹²⁾ (Itália, 2005) Jugala ⁽⁷⁾ (França, 2010)	
	Imperial Gala ⁽⁵⁾ (Nova Zelândia, 1978)	Ultima Gala™ ⁽⁶⁾ (=Banning; USA, 1997)		
		Maxi Gala ⁽⁹⁾ (Brasil, 1998)		
		Buckeye™ Gala ⁽⁵⁾ (=Simmons e PV 1001;EUA, 1989)		
		Premier Star ⁽⁸⁾ (Nova Zelândia, 1999)		
	Lydia's Red® Gala ⁽⁵⁾ (EUA, data desconhecida)			
	Regal Gala ⁴ (=Gala Must) (Nova Zelândia, 1973)			
	Lisgala ⁽¹⁰⁾ (Brasil, 1997)			
	Trecos ⁴ (=Gala-Go-Red) (EUA, 1990)			
	Big Red Gala ³ (EUA, 1992)			
	Castel Gala ⁽¹¹⁾ (Brasil, 2005)			

Fonte: (1): Brooks & Olmo (1997); (2): Denardi (2009); (3) Brooks & Olmo (1991); (4): Brooks & Olmo (1994); (5): Brooks & Olmo (1999); (6): Brooks & Olmo (2002); (7): Finn & Clark (2012); (8): Gasic & Preece (2014); (9): Weber et al. (2013); (10): Denardi & Camilo (1997); (11): Denardi & Seccon (2005); (12): <https://www.google.com/patents/US20140223620>.

(*) : reação de resistência (R) ou suscetibilidade (S) à mancha foliar de Glomerella, ocasionada pelo complexo *Colletotrichum*.

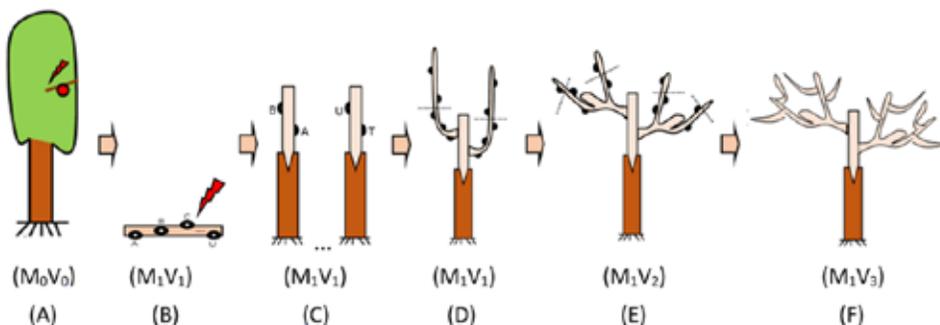


Figura 12. Avaliação de mutação por meio da técnica de poda repetida: (A): detecção do ramo mutante na planta; (B): coleta do ramo mutante (M1V1); (C): enxertias de segmentos do ramo mutante (M1V1) preferencialmente utilizando a garfagem dupla fenda contendo cada enxerto duas gemas; (D): primeira poda dos novos ramos gerados (M1V1), após a 3ª~4ª gema; (E): segunda poda dos ramos (M1V2), após a 3ª~4ª gema; (F): avaliação nos terceiros ramos mutantes (M1V3). Individualmente, cada novo ramo deve receber um código

Fonte: Broertjes & Harten (1978), modificado pelo autor.

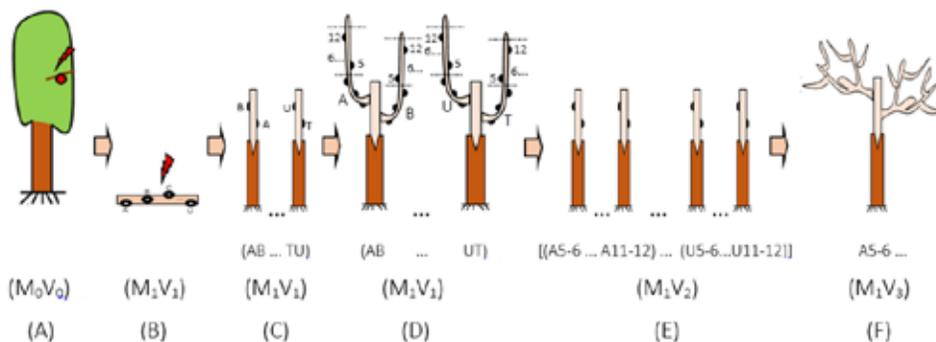


Figura 13. Avaliação de mutação por meio da técnica de enxertias: (A): detecção do ramo mutante na planta (M0V0); (B): coleta do ramo mutante (M1V1); (C): enxertias de diversos segmentos desse ramo original mutante contendo duas gemas cada um dos segmentos (M1V1); (D): crescimento dos ramos e retirada de seguimento dos dois ramos, preferencialmente entre a 5ª e 12ª gema (M1V2), de modo que contemple pelo menos duas voltas de gemas ao redor de cada ramo; (E): enxertia de seguimentos dos dois ramos retirados e nova enxertia contendo duas gemas cada (M1V2), preferencialmente utilizando a garfagem dupla fenda; (F): podas e formação de ramos produtivos à partir de cada uma das duas gemas e avaliação e seleção de mutantes observando, por exemplo, a reação à doença ou cor dos frutos (M1V3~4). Individualmente, cada um destes dois novos ramos deve receber um código

Fonte: Donini (1976), modificado pelo autor.

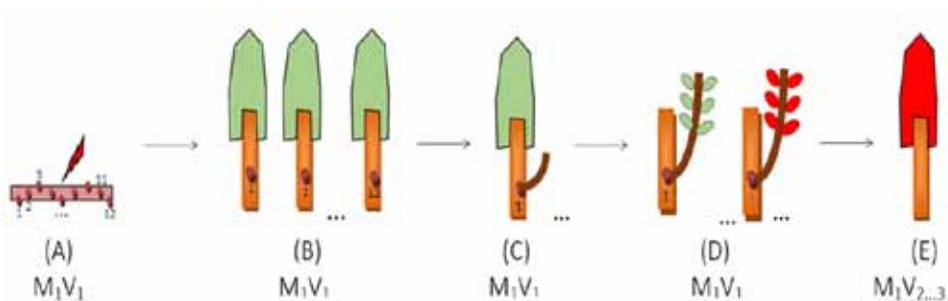


Figura 14. Avaliação de mutação por meio da técnica de enxertia de gemas por borbulha: (A): detecção do ramo mutante na planta (M₁V₁); (B): coleta do ramo mutante na primavera ao verão (dezembro~janeiro) e enxertar as gemas por borbulha em T normal ou invertido, enxertando uma gema por porta-enxerto numa quantidade que assegure a enxertia de duas voltas de gemas ao redor do ramo mutante original (M₁V₁), propiciando a obtenção de pelo menos 11 plantas, quando possível; (C): quando iniciar o crescimento da gema enxertada, proceder a poda do ramo principal do porta-enxerto logo acima da enxertia para estimular o crescimento da gema enxertada (M₁V₁); (D): desenvolvimento do ramo da gema enxertada e formação de uma nova planta, (M₁V₁); (E): podas e avaliações da expressão da mutação até a planta ficar adulta, semelhante à sequência mostrada na Figura 13 (M₁V₂~3...4)

São suficientes para oferecer uma boa garantia da estabilidade da mutação a realização de três a cinco gerações de enxertias ou o mesmo número de emissões de ramos novos mediante podas, não sendo necessário mais que oito a dez gerações (SUPRASANNA & NAKAGAWAB, 2011) de novos crescimentos para tal fim.

Caso apresente potencial comercial, a seleção poderá ser lançada como um novo cultivar comercial e ser protegida no Serviço Nacional de Proteção de Cultivares e registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Testes de novos genótipos mutantes e plantios comerciais

Após confirmação da estabilidade da mutação e antes do lançamento de uma nova cultivar, é importante a realização de detecção e limpeza de vírus para a produção de mudas. Para suprir a necessidade de quantidade razoável de plantas para serem utilizadas em testes de competição de cultivares nas instituições de pesquisa, ensino e nas propriedades rurais, as plantas podem ser multiplicadas por cultura de tecidos (*in vitro*) ou mediante a enxertia dos ramos mutantes selecionados em porta-enxertos ananizante. Essas plantas obtidas por reprodução vegetativa podem ser designadas como S-clones.

A multiplicação assexuada, através de enxertias de gemas ou de segmentos de ramos, pode manter a mutação selecionada indefinitivamente, caso não ocorra reversões. Esse sistema é o utilizado na produção de mudas de macieira para a implantação de novos pomares comerciais.

Antes ou após o lançamento do cultivar é indicado o seu plantio em diversos locais com diferentes condições edafoclimáticas para a avaliação da interação genótipo x ambiente. Esse teste é importante por que algumas mutações podem não expressar a característica mutante ou mesmo expressar em baixa intensidade quando submetidas a diferentes temperaturas, radiação, umidade e solo. Esses casos estão mais ligados a características controladas por muitos genes, como é a produtividade. Mas não exige alterações controladas por poucos genes, como a coloração e o formato dos frutos.

Por exemplo, a macieira cv. Fuji quando cultivada em São Joaquim, região mais fria de SC e situada acima de 1200 m de altitude, com cerca de 2.000 UF pelo método Carolina do Norte Modificado, normalmente produz frutos mais arredondados e de coração avermelhada uniforme. Já quando cultivada em Caçador, SC, com altitude entre 900 e 950 m e com cerca de 1.000 UF, geralmente produz frutos com formato irregular e com menor intensidade e cobertura vermelha no fruto (Figura 15).

No caso de doenças normalmente controladas por um ou poucos pares de genes, como é o caso da mancha foliar de *Glomerella* que é controlada por um gene com dois alelos recessivos (*cg cg*) (KATSURAYAMA & BONETI, 2009), a resistência é expressada de forma semelhante nas mais diversas condições edafoclimáticas do sul do Brasil.



Figura 15. Diferença no formato e coloração de fruto do cv. Fuji produzido em São Joaquim (A) e em Caçador (B)

Fotografias: Ivan D. Faoro (esquerda) e Frederico Denardi (direita).

Os testes realizados em dois ou mais locais devem ser implantados preferencialmente em delineamento experimental. Sempre que possível, a seleção mutante deve ser comparada ao cultivar comercial mais plantado pelos produtores da região e ao cultivar que originou a seleção mutante. O objetivo é comparar as qualidades positivas e negativas da nova seleção mutante frente aos cultivares tradicionalmente cultivados. A condução desse teste deve seguir o sistema de produção adotado nos pomares comerciais.

Observa-se que plantas mutantes para uma característica geralmente não alteram a maior parte de suas características agrônômicas. Exemplos são as mutações de ‘Gala’ para frutos com maior área de cobertura vermelhada, sem afetar a data de floração e de maturação (Tabelas 3 e 4). No entanto, algumas vezes essas alterações podem induzir menor aroma nos frutos, como foi observado em mutantes mais coloridos do cv. Delicious (BROWN & MALONEY, 2003).

Tabela 3. Floração, início da colheita dos frutos, eficiência de floração e frutificação efetiva em mutantes da cv. Gala sobre o porta-enxerto M-9, em Caçador, SC.

Cultivar	Início floração (data)	Início maturação (data)	Eficiência de floração ¹	Frutificação efetiva
Baigent (=Brookfield®)	15/09	06/02	28,3	1,14
Gala Real	15/09	06/02	22,4	1,21
Galaxy	15/09	06/02	20,6	1,23
Maxi Gala	15/09	06/02	19,6	0,15
Royal Gala	15/09	06/02	24,1	0,17

Fonte: Oliveira et al. (2011).

(1): eficiência de floração quanto ao número de gemas florais/cm² por área transversal do caule.

Tabela 4. Floração, início da colheita dos frutos, eficiência de floração e frutificação efetiva em mutantes da cv. Fuji sobre o porta-enxerto M-9, em Caçador, SC.

Cultivar	Início floração (data)	Início maturação (data)	Eficiência de floração ¹	Frutificação efetiva
Fuji Precoce	-	-	12,2	0,69
Fuji Select	10/09	25/03	12,4	0,68
Fuji Suprema	13/09	25/03	6,5	1,66
Mishima	10/09	25/03	7,5	1,40

Fonte: Oliveira et al. (2011).

(1): eficiência de floração quanto ao número de gemas florais/cm² por área transversal do caule.

Conclusões

A detecção, a seleção e a avaliação de mutantes de macieira requer acuidade e conhecimento sobre o processo de melhoramento adotado. Embora seja uma estratégia pouco adotada como linha de pesquisa em muitos centros de pesquisa, os seus resultados são reais e importantes comercialmente. Na cultura da macieira, isso é extremamente relevante, considerando que os cultivares mais plantados no Brasil são mutantes derivados dos cvs. Gala e Fuji. São exemplos os cvs. Brokfield, Galaxy, Maxi Gala e Fuji Suprema.

Espera-se que o tema aqui abordado sirva de subsídio para despertar o interesse nessa área por parte dos produtores e técnicos que atuam na área agrícola, fazendo com que observem melhor as plantas nos pomares e não percam oportunidades agronômicas e comerciais oferecidas de graça pela natureza.

REFERÊNCIAS

AHLOOWALIA, B.S.; MALUSZYNSKI, M.; NICTERLEIN, K. Global impact of mutation-derived varieties. **Euphytica**, v.135, p.187–204, 2004.

ALLARD, R.W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. Rio de Janeiro: Edgard Blücher, 1971, 381p.

BORÉM, A.; SANTOS, F.R. dos. **Biotechnologia simplificada**. Viçosa, 2003. 302 p.

BROERTJES, C.; HARTEN, A.M. **Applied mutation breeding methods in the improvement of vegetatively propagated crops: Volume 2**, Amsterdam: Elsevier,1978.

BROERTJES, C.; HARTEN, A.M. **Applied Mutation Breeding for vegetative propagated crops**. Amsterdam: Elsevier,1988. 345p.

BROOKS AND OLMO. **Register of fruit and nut varieties**. Ed.3. Alexandria: ASHS Press, 1997. 744p.

BROOKS AND OLMO. Register of new fruit and nut varieties, list 35. **HortScience**, v.26, n. 8, p. 951-986, 1991.

BROOKS AND OLMO. Register of new fruit and nut varieties, list 36. **HortScience**, v.29, n. 9, p. 942-969, 1994.

BROOKS AND OLMO. Register of new fruit and nut varieties, list 39. **HortScience**, v.34, n. 2, p. 181-2015, 1999.

BROOKS AND OLMO. Register of new fruit and nut varieties, list 41. **HortScience**, v.37, n. 2, p. 181-20251-272, 2002.

BROWN, S.K.; MALONEY, K.E. Genetic improvement of apple: breeding, markers, mapping and biotechnology. In: FERREE, D.C.; WARRINGTON, I.J. **Apples: botany, production and uses**. Wallingford: Cabi, p.32-59, 2003.

DENARDI, F. Novas cultivares comerciais de macieira e perspectivas de novos lançamentos. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 11. 2009, Fraiburgo: SC. **Anais...** Caçador: Epagri, vol.1 (Palestras), 2009. p.11-22

DENARDI, F.; CAMILO, A.P. EPAGRI. Epagri 407-Lisgala, mutação da cultivar de macieira Gala com epiderme mais colorida. **Agropecuária Catarinense**, v.10, n.1, 1997.

DENARDI, F.; SECCON, J.J. 'Castel Gala'- mutação da macieira 'Gala' com baixa necessidade de frio e maturação precoce. **Agropecuária Catarinense**, v.18, n.2, p.78-82, 2005.

DICKINSON, J.P.; WHITE, A.G. Red colour distribution in the skin of Gala apple and some its sports. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 29, p. 695-698, 1986.

DONINI, B. Breeding methods and applied mutagenesis in fruit plants. In: **Proc. Workshop Eur. Comm. Israel, Use of Ionizing radiation**, Wageningen, 1976. p.445-448.

FAORO, I.D. Participação dos cultivares Gala e Fuji na produção brasileira de maçã. **Jornal da Fruta**, n. 318, p.14, 2017.

FINN, C.E.; CLARK, J.R. Register of new fruit and cultivars List 47. **HortScience**, v. 49, n. 4, p. 396-421, 2012.

FORSTERA, B.P.; SHU, Q.Y. Plant mutagenesis in crop improvement: basic terms and applications. In: Shu, Q.Y.; Forster, B.P.; Nakagawa, H. (Eds.). **Plant mutation breeding and biotechnology**. Vienna: FAO/IAEA. p. 9-20.2011.

FRANCESCATTO, P. **Desenvolvimento das estruturas reprodutivas da macieira (Malus domestica Borkh.) sob diferentes condições climáticas: da formação das gemas à colheita dos frutos**. Florianópolis: UFSC, 2014. 239p. (Tese Doutorado)

GASIC, K.; PREECE, J.E. Register of new fruit and cultivars List 46. **HortScience**, v. 47, n. 5, p. 536-562, 2014.

GEIER, T. Chimeras: properties and dissociation in vegetatively propagated plants. In: Shu, Q.Y.; Forster, B.P.; Nakagawa, H. (Eds.). **Plant mutation breeding and biotechnology**. Vienna: FAO/IAEA. p. 191-201.2011.

GOULART JR, R.; MONDARDO, M.; REITER, J.M.W. **Relatório sobre a fruticultura catarinense: Fruticultura em números – Safra 2014/15**. Florianópolis: Epagri, 2017. 114p. (Epagri. Documentos, 271).

GRIFFITHS, A.J.F.; WESSLER, S.R.; CARROLL, S.B.; DOEBLEY, J. **Introdução à genética**. 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 710p. (ISBN 978-85-277-2191-2).

HANCOCK, J. F. **Plant evolution and the origin of crop species**. 3ª ed. Wallingford: CABI, 2014. 245p. (ISBN-13: 978-1-78064-477-6).

HARLAN, J.R. **Crops and man**. 2ª ed. Madison: American Society of Agronomy/Crop Science of America. 1992, 283p.

HARTEN, A.M. **Mutation breeding, theory and practical applications**. Cambridge: Cambridge Press. 1998. 355p.

HAUAGGE, R.; BRUCKNER, C.H. Macieira. In: BRUCKNER, C.H. (Ed.) **Melhoramento de fruteiras de clima temperado**. Viçosa: UFV, p.27-88, 2002.

IGARASHI, M.; HATSUYAMA, Y.; HARADA, T.; FUKASAWA-AKADA, T. Biotechnology and apple breeding in Japan. **Breeding Science**, v.66, p. 18–33, 2016.

IGLESIAS, A; ECHEVERRÍA, G.; LOPEZC, M.L. Fruit color development, anthocyanin content, standard quality, volatile compound emissions and consumer acceptability of several ‘Fuji’ apple strains. **Scientia Horticulturae**, v.137, p. 138–147, 2012.

IGLESIAS, A; ECHEVERRÍA, G.; SORIA, Y. Differences in fruit colour development, anthocyanin content, fruit quality and consumer acceptability of eight ‘Gala’ apple strains. **Scientia Horticulturae**, v.119, p. 32-40, 2008.

KATSURAYAMA, Y.; BONETI, J.I. da S. Mancha da gala. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 11. 2009, Fraiburgo, SC. **Anais...** Caçador: Epagri, vol. I (Palestras), p.79-98, 2009.

LEITE, G.B.; FINARDI, GN.L.; FORTES, G.R.L. Propagação da macieira. In: EPAGRI. **A cultura da macieira**. Florianópolis: Epagri. 2002. p.299-333.

LESPINASSE, Y. Breeding fruit temperate zone. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.17, extra, p.53-73, 1995.

MALUSZYNSKI, M.; SZAREJKO, I.; BHATIA, C.R.; NICHTERLEIN, K.; LAGODA, P.J.L. Methodologies for generating variability Part 4: mutation techniques. In: CECCARELLI, S.; GUIMARÃES, E.P.; WELTZIEN, E. (Ed.) **Plant breeding and farmer participation**. Roma: FAO, p.159-194, 2009.

MIYAKI, C.Y. A contribuição das técnicas moleculares para a conservação de aves.

Brazilian Journal of Genetics, v.19, n.4, Supplement, p.49-52, 1996.

OLIVEIRA, P.R.D. de; LEITE, G.B.; NUNES, E. da C.; FIORAVANÇO, J.C.; CZERMANSKI, A.B.C.; GIRARDI, C.L.; NACHTIGAL, G.R.; BERNARDI, J.; SANTOS, R.S.S. dos; ALVES, S.A.M.; ARGENTA, L.C.; BASSO, C.; DENARDI, F.; PETRI, J.L.; COUTO, M.; BECKER, W.F.; PEREIRA, A.J.; NAVA, G.; BONETI, J.I. da S.; KATSURAYAMA, J.M. . Competição entre clones comerciais das cultivares de macieira Gala e Fuji. In: Ed. Gilmar R. Nachtigall. **Inovações tecnológicas para o setor da maçã, Inovamaçã: relatório técnico**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p. 219-236, 2011.

PAN, H.; SHU, Z. Temperature effects color and quality characteristics of 'Pink' wax apple fruit discs. **Scientia Horticultura**, v. 112, p. 290-296, 2007.

PRATT, C. Apple flower and fruit: morphology and anatomy. **Horticultural Reviews**, v.10, p. 273-308, 1988.

RYUGO, K. **Fruit culture: its science and art**. Nova Iorque: John Wiley & Sons. 1988, 344p.

SUPRASANNAA, P.; NAKAGAWAB, H. Mutation breeding of vegetatively propagated crops. In: Shu, Q.Y.; Forster, B.P.; Nakagawa, H. (Eds.). **Plant mutation breeding and biotechnology**. Vienna: FAO/IAEA. p. 347-358. 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004, 719p.

TEMPLETON, A.R. **Genética de populações e teoria microevolutiva**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2011. 705p.

UBI, B.E. The genetics of anthocyanin reddening in apple fruit skin. **Food, Agricultura & Environment**, v. 2, n. 1, p. 163-165, 2004.

VALOIS, A.C.C.; PAIVA, J.R. de; FERREIRA, F.R.; SOARES FILHO, W. dos S; DANTAS, J.L.L. Melhoramento de espécies de propagação vegetativa. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S. de; VALADARES-IMGÇIS, M.C. (Eds.) **Recursos genéticos e melhoramento- planta**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p.283-291 (ISBN 85-88473-01-1).

ZOHARY, D.; HOPF, M. **Domestication of plants in the old world**. Ed. 2ª. Oxford: Clarendon. 1994. 279p.

WHITE, A.G.; LESPINASSE, Y. The inheritance of fruit colour in apple (*Malus pumila* Mill). **Agronomie**, v. 6, n.1, p. 105-108, 1986.

WHITE, A.G.; JOHNSTONE, N.M. Measurement of fruit surface colour in 'Gala' apple (*malus pumila* Mill.) and twenty of its sports by image analysis. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 19, p. 221-223, 1991.

WEBER, A.; BRACKMANN, A.; ANESE, R. de O.; BOTH, V.; PAVANELLO, E.P. Atmosfera controlada para o armazenamento da maçã 'Maxi Gala'. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n 2, p. 294-301, 2013.

-  www.epagri.sc.gov.br
-  www.youtube.com/epagritv
-  www.facebook.com/epagri
-  www.twitter.com/epagrioficial
-  www.instagram.com/epagri



FAPESC

FUNDAÇÃO DE APOIO À PESQUISA
CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DO
ESTADO DE SANTA CATARINA