

EDILSON MARQUES JUNIOR

**DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA POPULACIONAL DE
PROGÊNIES MEIOS IRMÃOS E IRMÃOS COMPLETOS DE
MARACUJAZEIRO AZEDO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2019

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

M357d
2019 Marques Junior, Edilson, 1993-
Diversidade genética e estrutura populacional de progênies
meios irmãos e irmãos completos de maracujazeiro azedo /
Edilson Marques Junior. – Viçosa, MG, 2019.
x, 56 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Carlos Eduardo Magalhaes dos Santos.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 46-56.

1. Maracujá - Genética. 2. Genótipos. 3. Variação
(Genética). 4. Cruzamentos genéticos. I. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Fitotecnia. Programa de
Pós-Graduação em Genética e Melhoramento. II. Título.

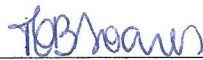
CDD 22. ed. 634.4252

EDILSON MARQUES JUNIOR

**DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA POPULACIONAL DE
PROGÊNIES MEIOS IRMÃOS E IRMÃOS COMPLETOS DE
MARACUJAZEIRO AZEDO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

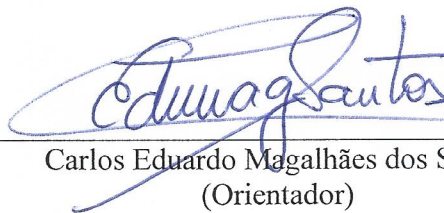
APROVADA: 30 de julho de 2019.



Taís Cristina Bastos Soares



Eveline Teixeira cáixeta
(Coorientadora)



Carlos Eduardo Magalhães dos Santos
(Orientador)

A Deus, e a meus pais, irmãos, sobrinhos, demais familiares e amigos que
contribuíram para esta conquista...

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me conceder o dom da vida, por todas as bênçãos alcançadas e ser o refúgio nas horas mais difíceis.

À Universidade Federal de Viçosa e ao programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, pela oportunidade de formação e apoio para realização das pesquisas.

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo apoio financeiro – código de financiamento 001.

Ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e a FAPEMIG – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, pela concessão de bolsa e financiamento das pesquisas.

Ao Professor Dr. Carlos Eduardo Magalhães dos Santos, pela amizade, orientação, ensinamentos, dedicação, paciência e, principalmente, por me incentivar a buscar a fazer sempre o melhor, contribuindo para o meu crescimento pessoal e profissional.

Aos Coorientadores, Dr^a. Eveline Teixeira Caixeta e a Dr^a. Luciana Domiciano Silva Rosado, pelos conselhos, orientações e conhecimentos compartilhados.

Aos membros examinadores da banca, Dr^a. Taís Cristina Bastos Soares e Dr^a. Eveline Teixeira Caixeta, por aceitarem o convite em participar, e pelos conhecimentos compartilhados para o enriquecimento deste trabalho.

Aos meus pais, José Renato Marques e Sônia Maria Silva Marques, pela paciência, carinho, apoio, orações e conselhos, sem vocês não estaria aqui.

A meus irmãos Maria Crélia, José Carlos, Ledriana, Claudemir, Lucas e Vaniele, aos meus sobrinhos, aos meus cunhados e cunhadas, pelo amparo e amizade sincera, vocês são um exemplo em minha vida.

Às minhas professoras do ensino fundamental, em especial Gilcélia Lopes (“Tia Céia”) e Cristina Machado, que tanto me ensinaram, incentivaram e acreditaram em mim. Sem vocês, jamais teria chegado aqui. Essa conquista, sem dúvida, também é de vocês!

Aos amigos do Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento de Plantas e aos amigos do Laboratório de Melhoramento de Fruteiras, pelo companheirismo, aprendizado, momentos compartilhados, e amizade sincera, vocês tornaram os trabalhos do laboratório bem mais

prazerosos. Em especial, a Professora Dra. Ana Cláudia e Dra. Luciana, pela ajuda nas análises laboratoriais.

Aos amigos da república “Mim ataca”, Jorge, Kaique e Rodrigo; pelo companheirismo, compreensão, momentos compartilhados e amizade. Vocês tornaram os dias em Viçosa menos difíceis. Obrigado pela disponibilidade em ajudar sempre que precisei, principalmente nas análises realizadas nos finais de semana e por me incentivarem a fazer o melhor. Lembrarei sempre dos “levanta Edilson, temos que produzir” e dos “tá cansado de quê? Não fez nada ainda”.

A todos os demais professores e funcionários, que contribuíram para esta conquista, em especial os funcionários de Setor de Fruticultura, Andressa, Beбето, Hugo, Júlio, Maria das Dores, Nei, Sabino e Vicente, por estarem sempre solícitos quando precisei.

Enfim, a todos vocês e aos demais amigos, os quais por um lapso de memória não foram citados neste pequeno texto, meu muito obrigado!

“Nós somos o que repetidamente fazemos. A excelência, portanto, não é um ato, mas um hábito.”

Aristóteles

RESUMO

MARQUES JUNIOR, Edilson, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2019. **Diversidade genética e estrutura populacional de progênies meios irmãos e irmãos completos de maracujazeiro azedo.** Orientador: Carlos Eduardo Magalhães dos Santos. Coorientadores: Eveline Teixeira Caixeta e Luciana Domiciano Silva Rosado.

Nas últimas décadas, houve uma expressiva expansão dos cultivos de maracujazeiro azedo nas diversas regiões brasileiras. Entretanto, a produtividade média dos cultivos é considerada baixa, frente ao potencial de produção da cultura. Fatores, como falta de cultivares adaptados a diversas regiões de produção, e alta incidência de pragas e doenças, são os limitantes para aumento da produtividade da cultura. Pesquisas visando superar estes entraves, principalmente de melhoramento genético, que visam o lançamento de cultivares superiores estão sendo desenvolvidas. O sucesso desses programas está intrinsicamente ligado ao conhecimento da estrutura e diversidade genética das populações trabalhadas e, dessa forma, permitem ao melhorista traçar eficientes estratégias de seleção para obtenção de maiores ganhos. Objetivou-se com este trabalho estudar e comparar a estrutura e a diversidade genética de progênies de meios irmãos e irmãos completos de *Passiflora edulis* Sims, comumente utilizadas no melhoramento da cultura. Duas progênies híbridas de irmãos completos (PHA e PHB) foram obtidas por cruzamento controlado de genitores contrastantes e uma progênie de meios irmãos foi obtida a partir de polinização aberta (PPA). Um total de 36 genótipos de cada progênie de irmãos completos e 45 genótipos da progênie de meios irmãos, juntamente com seus genitores foram analisados com marcadores SSR. A estrutura genética das populações foi verificada por meio de meio de uma abordagem bayesiana no *Software Structure*, e da AMOVA de Excoffier. A diversidade genética das progênies foi estudada por meio de agrupamentos hierárquicos gerados a partir da matriz de distância do índice de diversidade de Nei. Ao comparar as três progênies, maior proporção da diversidade genética é encontrada dentro das progênies. Comparando as progênies aos pares, maior diversidade é também encontrada dentro das progênies, inclusive ao comparar a progênie de meios irmãos com as progênies de irmãos completos. A estruturação das progênies pela abordagem bayesiana, estruturou as três progênies em duas progênies hipotéticas geneticamente, em que PHA e PPA apresentaram estrutura genética distinta entre si. A progênie PHB apresentou uma estrutura genética intermediária entre PHA e PPA, possivelmente pela relação de parentesco com essas duas progênies. Ao estudar a diversidade genética, observou-se que as progênies de irmãos completos apresentaram maior grau de diversidade genética, do que a progênie de meios irmãos. Quando comparadas

as progênies híbridas entre si, não se observou um padrão de distribuição dos indivíduos relacionados as suas progênies, onde praticamente todos os grupos formados era constituído de indivíduos de ambas as progênies, possivelmente pela relação de parentesco. Entretanto, a progênie de meios irmãos tende a se caracterizar em relação às progênies híbridas no agrupamento, possivelmente pela menor proporção de alelos comuns com estas progênies, visto que é formada pela contribuição genética de mais de um genitor masculino. Por outro lado, esta progênie apresenta menor índice de diversidade genética entre seus indivíduos, possivelmente pela ocorrência de cruzamentos correlacionados na formação da progênie, o que pode causar implicações em estratégias de melhoramento de maracujazeiro azedo.

ABSTRACT

MARQUES JUNIOR, Edilson, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2019. **Genetic diversity and population structure of progenies half-sibling and full-siblings of sour passion fruit.** Advisor: Carlos Eduardo Magalhães dos Santos. Co-advisors: Eveline Teixeira Caixeta and Luciana Domiciano Silva Rosado.

In the last decades, there was a significant expansion of the sour passion fruit crops in several Brazilian regions. However, the average yield of crops is considered low, given the potential production of the crop. Factors, such as lack of cultivars adapted to different production regions, and high incidence of pests and diseases, are the limiting factors for increased crop productivity. Researches aiming overcome these barriers, mainly genetic improvement, aimed at the release of superior cultivars are being developed. The success of these programs is intrinsically linked to the knowledge of the structure and genetic diversity of the populations used in the present study and, thus, allows the breeder to design efficient selection strategies to obtain greater gains. The objective of this research was to study and compare the structure and genetic diversity of *Passiflora edulis* Sims half-sibling and full-sibling progenies, commonly used in crop improvement. Two full-sibling progenies (PHA and PHB) were obtained by controlled crossing of contrasting parents and one half-sibling progeny was obtained from open pollination (PPA). Thirty-six genotypes of each full-sibling progeny and 45 genotypes of the half sibling progeny along with their parents were analyzed with SSR markers. The genetic structure of the populations was verified by bayesian approach in Software Structure and Excoffier AMOVA. The genetic diversity of progenies was studied through hierarchical groupings generated from the distance matrix of the Nei diversity index. When comparing the three progenies, a greater proportion of genetic diversity is found within the progenies. When the progenies are compared in pairs, greater diversity is also found within the progenies, even when comparing the half-sibling progeny with the full-sibling progeny. The bayesian approach structured the three progenies into two genetically hypothetical progenies, in which PHA and PPA presented distinct genetic structure from each other. The PHB progeny presented an intermediate genetic structure between PHA and PPA, possibly due to the relationship between these two progenies. When studying genetic diversity, it was observed that the progenies of full-siblings presented a higher degree of genetic diversity than the progeny of half-siblings. When comparing the hybrid progenies with each other, there was no pattern of distribution of individuals related to their progenies, where practically all groups formed were individuals of both progenies, possibly by their kinship. However, the half-sibling progeny tends to be characterized in relation to the

hybrid progenies in the cluster, possibly due to the smaller proportion of common alleles with these progenies, since it is formed by the genetic contribution of more than one male parent. On the other hand, this progeny presents lower index of genetic diversity among its individuals, possibly due to the occurrence of correlated crosses in the progeny formation, which may have implications on strategies for the improvement of sour passion fruit.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	OBJETIVOS.....	3
2.1.	GERAL.....	3
2.2.	ESPECÍFICOS.....	3
3.	REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
3.1.	O GÊNERO PASSIFLORA.....	4
3.2.	A PRODUÇÃO DE MARACUJAZEIRO NO BRASIL: ASPECTOS ECONÔMICOS, SOCIAIS E DE CULTIVO.	5
3.3.	MELHORAMENTO DO MARACUJAZEIRO.....	7
3.4.	MARCADORES MOLECULARES NO ESTUDO DA DIVERSIDADE E CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA EM PASSIFLORAS.....	11
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	16
4.1.	GENITORES E OBTENÇÃO DAS PROGÊNIES.....	16
4.2.	GENOTIPAGEM.....	18
4.3.	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	19
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
5.1.	QUALIDADE DAS AMPLIFICAÇÕES, PERFIL GENÉTICO E HETEROZIGOSIDADE DAS PROGÊNIES ESTUDADAS.....	23
5.2.	ESTRUTURA POPULACIONAL DAS PROGÊNIES.....	27
5.3.	DIVERSIDADE INTER E INTRA PROGÊNIES.....	32
6.	CONCLUSÕES.....	45
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

1. INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se como maior produtor e consumidor mundial de maracujá, o que atribui a cultura grande papel sócio econômico no país, em função dos diversos empregos diretos e indiretos gerados, além de ser uma cultura de base familiar, e constituir-se em uma importante fonte de renda a pequenos e médios produtores. A espécie *Passiflora edulis* Sims, popularmente conhecido como maracujazeiro azedo, possui posição de destaque e representa aproximadamente 95% da produção nacional de maracujá (HAFLE et al., 2010), com grande parte da produção destinada à indústria, para a produção de sucos (MELETTI, 2011).

A produção brasileira de maracujazeiro azedo é recente, com pouco mais de 40 anos, e apresenta produtividade média em torno de 13 t/ha, considerada baixa quando comparado ao potencial da cultura, superior a 30 t/ha (FREITAS et al., 2011; CERQUEIRA-SILVA et al., 2015). Grandes avanços foram obtidos nas últimas décadas, e considerável incremento na produção e áreas de cultivo foram observados.

A adoção de novas tecnologias de produção, a profissionalização da atividade, o uso de cultivares melhoradas, aliado a um mercado de demanda crescente, são as principais causas do crescimento da cultura nas diferentes regiões de cultivo do país (MELETTI, 2011; SÁ et al., 2014). Ainda assim, muitos desafios são encontrados na cultura, como os problemas fitossanitários, a longevidade dos pomares e a baixa disponibilidade de genótipos superiores para cultivo, especialmente resistentes às principais doenças (HAFLE et al., 2010; CERQUEIRA-SILVA et al., 2018).

No melhoramento genético, a obtenção de ganhos e, conseqüentemente, o sucesso do programa, está intrinsecamente relacionado a presença de alelos favoráveis e variabilidade genética nos genitores. Desta forma, um fator imprescindível ao iniciar um programa de melhoramento é conhecer a diversidade genética dos acessos que serão utilizados, tornando possível direcionar cruzamentos entre genitores mais divergentes.

Cerqueira-Silva et al. (2018) relataram a necessidade de uma caracterização morfo-agronômica e molecular em maracujazeiros, no sentido de pré-melhoramento visando explorar de forma mais eficiente os recursos genéticos das espécies, inclusive em espécies comerciais, como a *P. edulis* Sims. Assim, conhecer os parâmetros genéticos de uma população e sua estrutura populacional é essencial para maximizar os ganhos em programas de melhoramento. Essas informações são importantes para o

melhorista entender as variações na população, e permite traçar melhores estratégias de seleção (CORDEIRO et al., 2019a). O conhecimento da estrutura, bem como da diversidade genética e seu comportamento em populações de qualquer espécie é essencial não apenas para trabalhos de melhoramento, mas também para conservação (LOSS et al., 2006; TIAN-MING et al., 2007; SILVA et al., 2016).

Marcadores moleculares consistem em uma importante e eficiente ferramenta na caracterização genética de acessos e populações de plantas, inclusive no maracujazeiro (CASTRO et al., 2016; MELO et al., 2016). Dentre os vários marcadores moleculares utilizados na caracterização de plantas, os SSRs se destacam devido as suas características de alta reprodutibilidade, polimorfismo, natureza codominante, alto poder de resolução e multialelismo, e, são amplamente utilizados para diversas finalidades no melhoramento de plantas (BUSCHIAZZO e GEMMELL, 2010; CAIXETA et al., 2013).

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

- Verificar as possíveis relações estruturais de famílias de meios irmãos e irmãos completos, e sua influência na diversidade genética e no melhoramento de maracujazeiro azedo.

2.2. Específicos

- Comparar a estrutura populacional de meios irmãos e irmãos completos em progênies de *P. edulis* Sims;
- Avaliar o comportamento da diversidade genética dentro de progênies de meios irmãos e irmãos completos em *P. edulis* Sims.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. O Gênero *Passiflora*

A família Passifloraceae apresenta ampla distribuição geográfica, com ocorrência desde as regiões tropicais, onde se concentra a maioria das espécies, até algumas regiões temperadas do planeta, como na América do Norte e Sul, Nova Zelândia e Sul da China (FEUILLET e MACDOUGAL, 2007). A família possui quatro gêneros descritos, e o *Passiflora* é o que detém maior número de espécies. Este gênero é nativo do Brasil e possui ampla distribuição geográfica, e ocorrência em todos os biomas brasileiros (BERNACCI et al., 2015).

A maioria das espécies são plantas herbáceas, apesar de ocorrer espécies do tipo arbustivas e arbóreas (MUSCHNER et al., 2012). Algumas das espécies apresentam considerável importância econômica, principalmente por serem utilizadas diretamente na alimentação humana, na forma de sucos ou *in natura*, e também na indústria farmacêutica, para extração de fármacos. Além disso, o potencial diversas espécies tem sido estudado ornamentação, devido a beleza e diversidade das flores (YOCKTENG e NADOT, 2004; MELETTI, 2011). O gênero é marcado pela vasta diversidade genética, principalmente nas folhas e flores, com ampla variação de tamanhos, cor, formato da coroa e perianto. Os frutos se apresentam nos mais diversos tamanhos e formas (MACDOUGAL, 1994; ULMER; MACDOUGAL, 2004).

Existe divergência com relação ao número de subgêneros do gênero *Passiflora*. Na classificação inicial, o gênero foi dividido em 23 subgêneros (KILLIP, 1938; ESCOBAR, 1989), entretanto, Feuillet e MacDougal (2003), estudando caracteres morfológicos, principalmente relacionados a flores, propuseram uma drástica redução na classificação infragenérica, para 4 subgêneros: *Astropheia*, *Decaloba*, *Deidamioides* e *Passiflora*. Essa classificação tem sido total ou parcialmente suportada por outras pesquisas, inclusive por evidências moleculares (YOCKTENG; NADOT, 2004; HANSEN et al., 2006; MUSCHNER et al., 2012). Essa classificação, atualmente tem sido a mais aceita, apesar de alguns pesquisadores ainda adotar a classificação anterior.

3.2. A produção de maracujazeiro no Brasil: Aspectos econômicos, sociais e de cultivo.

Das diversas espécies de *Passifloras*, duas são as principais exploradas para a alimentação humana: *P. alata* Curtis, conhecido como maracujá doce e *P. edulis* Sims popular maracujá azedo. Apesar do *P. alata* Curtis ser utilizado na alimentação, a sua produção é em pequena escala. O *P. edulis* Sims é a principal espécie do gênero *Passiflora* e representa cerca de 95% da produção nacional de maracujás (MELETTI, 2011). Outras espécies do gênero apresentam importância mais regionalizada e com baixa expressão no cenário nacional da produção de maracujás, como *P. quadrangularis* L, *P. nitida* Kunth, *P. caerulea* L., *P. laurifolia* L., *P. cincinnata* Mast e *P. setacea* DC (MELETTI et al., 2005).

O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de maracujás. Em 2018, a cultura ocupou uma área de aproximadamente 41 mil hectares, com produção total de frutos de aproximadamente 602 mil toneladas. A produção de maracujás brasileira praticamente dobrou no período de 2001 a 2011, crescendo de 467.464 em 2001, para 923.035 toneladas em 2011. Apesar de nos últimos anos, observar redução na quantidade produzida, o Brasil se mantém como líder mundial na produção desse fruto. A produção se concentra na região Nordeste, responsável por cerca de 60% da produção nacional, seguida pelo Sudeste, com cerca de 15%, e região Sul com 13% da produção. Os outros 12% se divide entre as regiões Norte e Centro-Oeste, com 9 e 3% da produção, respectivamente (IBGE, 2019).

A cultura possui importante papel socioeconômico, visto que grande parte da produção nacional é realizada por pequenos produtores, em especial aqueles com base familiar. Além disso, estima-se que, para cada hectare plantado, cerca de 8 a 12 empregos diretos e indiretos sejam gerados na cadeia produtiva (MELETTI, 2011).

A cultura possui significativo potencial de geração de renda. Além do alto valor agregado, outras vantagens são atribuídas ao maracujazeiro, como rápido retorno econômico e renda distribuída ao longo da maior parte do ano, o que a torna ainda mais interessante ao pequeno produtor. Outro fato importante, e que além da opção de venda direta ao mercado, alguns produtores, principalmente os de base familiar têm processado os frutos na própria propriedade rural, para obtenção da polpa com ou sem

sementes, o que tem agregado mais valor à produção (MELETTI e CAPANEMA, 2014).

O maracujazeiro azedo é classificado como uma planta alógama por excelência, devido ao fenômeno da autoincompatibilidade de suas flores do tipo homomórfica e esporofítica (BRUCKNER et al., 1995), o que a faz seu sistema de reprodução ser exclusivamente de polinização cruzada. Na formação dos pomares, os produtores devem se atentar para que a área seja constituída de plantas genotipicamente diferentes para a formação dos frutos, visto que as mesmas não se autofecundam, e até mesmo plantas diferentes podem não se cruzar, se apresentarem homologia para alelos de incompatibilidade.

Diferentemente de algumas outras plantas alógamas, como no milho, onde a polinização cruzada é do tipo anemófila, no maracujazeiro a polinização é do tipo entomófila, sendo realizada principalmente por vespas do gênero *Xilocopa* (MARCOS FILHO, 2005; SIQUEIRA et al., 2009). Em cultivos onde a população de vespas é baixa, ou se objetiva maiores produtividades e frutos de melhor qualidade, deve-se complementar com a polinização manual, o que aumenta a porcentagem de pegamentos e peso dos frutos (HOFFMANN et al., 2000).

O Brasil, devido ao seu clima tropical, apresenta condições edafoclimáticas ideais para o desenvolvimento da cultura. O maracujazeiro é uma planta tropical, de clima quente e úmido, com melhor desenvolvimento em condições tropicais ou subtropicais. Regiões com temperaturas entre 21 e 25 °C e dias longos são tidas como ideais, mas a planta consegue se desenvolver bem em temperaturas acima de 15 °C, desde que não ocorra geadas e alta incidência de ventos, que podem ser potencialmente danosos ao seu desenvolvimento (FALEIRO e JUNQUEIRA, 2016).

Além disso, a susceptibilidade da cultura a outros fatores abióticos, como o estresse hídrico, e bióticos, como a susceptibilidade a pragas e doenças, torna os cultivos de alto risco. A exigência hídrica da cultura, faz com que a irrigação seja essencial nos cultivos, principalmente em regiões áridas e semiáridas, com precipitações mal distribuída ao longo do ano (MELETTI e CAPANEMA, 2014), além disso, a necessidade de medidas de controle fitossanitário elevam os custos de cultivo.

O maracujazeiro é uma cultura de custos relativamente altos, considerando que a cultura é praticada em geral por pequenos e médios produtores. Em estimativas de custos realizadas para o maracujá amarelo, os custos totais da cultura no primeiro e segundo de ano de cultivo foi estimado em R\$ 47.400,40 por hectare, em espaçamento

de 2 x 3 metros. No mesmo trabalho, foi demonstrado que espaçamentos maiores (6 x 3 metros) pode proporcionar custos menores por hectare (R\$ 30.672,50), entretanto o custo de produção por kg pode aumentar em 31,64% (MOREIRA et al., 2019). Problemas, como manejo inadequado, ineficiência dos recursos de produção, baixa produtividade, instabilidade de preços e comercialização afetam as taxas de retorno da cultura.

3.3. Melhoramento do maracujazeiro

O melhoramento do maracujazeiro pode ser visto por várias vertentes, em função das diferentes finalidades, regiões consideradas e produto desejado, tais como aumento de produtividade, resistência a pragas e doenças, e obtenção de cultivares ornamentais (JUNQUEIRA et al., 2007; CARVALHO et al., 2017; SILVA et al., 2017; PEREIRA et al., 2019). Devido a apreciação da beleza das plantas e suas flores, que variam em tamanho, forma e cor, pesquisas têm sido desenvolvidas visando a obtenção de cultivares para fins ornamentais. O interesse no gênero, como plantas ornamentais, vai além da sua beleza, devido a algumas espécies se adaptarem bem a ambientes interiores, com menor disponibilidade de luz (MELO et al., 2016; SOUZA et al., 2018), entretanto, no Brasil o uso das passifloráceas para fins ornamentais é recente, e pesquisas nesse sentido foram iniciadas a poucos anos (FONSECA et al., 2017).

As principais pesquisas no melhoramento genético são voltadas para a obtenção de cultivares mais produtivas, de melhor qualidade de fruto e tolerantes a estresses bióticos e abióticos (GIOPPATO et al., 2019). A principal espécie pesquisada é a *P. edulis*, e no Brasil o melhoramento para esta espécie encontra-se consolidado (BRUCKNER et al., 2002; SANTOS et al., 2015). O melhoramento é tido como um dos principais contribuintes para a expansão dos cultivos de maracujá no Brasil (MELETTI, 2011).

Até os anos de 1970, a produção de maracujá brasileira era quase incipiente e o Brasil nem configurava entre os principais países produtores. Desde então, a atividade começou a se expandir para diversas regiões brasileiras, o que a caracteriza como uma atividade relativamente nova no Brasil, com pouco mais de 40 anos. Até metade da década de 80, apesar do notório crescimento, a atividade era praticada em completo amadorismo, devido ao baixo conhecimento e nível tecnológico empregado na cultura. A partir de então, com a expressividade adquirida pela cultura, a

profissionalização da atividade e a formação das equipes multidisciplinares e multiinstitucionais de pesquisa nos anos 90, houve uma expansão significativa dos cultivos (MELETTI, 2011).

Até o final dos anos 90, a implantação de novos pomares era feita essencialmente de sementes dos próprios pomares e de atacadistas, pois o mercado de sementes melhoradas ainda era pouco consolidado ou inexistente. Após o início dos trabalhos de melhoramento da cultura, na década de 90, e o lançamento de cultivares e híbridos melhorados no início dos anos 2000, grande parte dos pomares passaram a ser instalados ou renovados com sementes selecionadas (MELETTI, 2011; FALEIRO e JUNQUEIRA, 2016).

O Instituto Agrônômico de Campinas (IAC) e a Empresas Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) contribuíram significativamente nesse processo, com o lançamento de importantes cultivares utilizadas até o momento na maioria dos cultivos (ARAÚJO, 2018). Outros programas de melhoramento de maracujazeiro azedo também possuem cultivares registradas, como da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), Viveiros Flora Brasil LTDA, Feltrin Sementes LTDA, Agristar do Brasil LTDA e Hortec Tecnologia de Sementes LTDA (MAPA, 2019).

O programa de melhoramento de maracujazeiro azedo da UFV, ainda não possui cultivares comerciais registrados. Entretanto, detém o registro do genótipo mutante de maracujazeiro azedo, UFV-M7, insensível ao fotoperíodo (LIRA JUNIOR et al., 2014). Além disso, possui genótipos em fase de teste para lançamento. Este programa foi criado em 1995, e os primeiros trabalhos teve como objetivo a caracterização dos sistemas de incompatibilidade do maracujazeiro azedo, bem como, os genes que controlam esta característica (BRUCKNER et al., 1995). O foco do programa é a obtenção de genótipos insensíveis às variações foto periódicas, tolerantes a doenças, como a fusariose, e de maior potencial produtivo e melhor qualidade de frutos.

Alguns trabalhos desenvolvidos neste programa, contribuíram significativamente para o melhoramento da cultura. Radiação gama foi utilizada para indução de mutação e obtenção de genótipos de maracujazeiro azedo resistentes a *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*. Na caracterização físico-química de frutos dos genótipos resistentes, observou-se que os mesmos eram passíveis de serem

consumidos tanto *in natura*, bem como na indústria de sucos (FLORES et al., 2011). O mutante de maracujazeiro azedo insensível ao fotoperíodo (UFV-M7) foi obtido a partir do trabalho citado anteriormente e confirmado por Lira Júnior et al. (2014). A possibilidade de autofecundação em *P. edulis* foi demonstrada por Lira Junior et al. (2016). A autofecundação em maracujazeiro azedo é importante por permitir a fixação de alelos e possibilitar explorar efeitos heteróticos na produção de híbridos. As populações de melhoramento são compostas basicamente por germoplasma próprio, variedades comerciais de *P. edulis*, além das espécies silvestres, utilizados como fonte de genes de resistência em hibridações interespecíficas, e porta enxertos.

A produtividade média nacional de maracujazeiro é baixa, quando comparado ao potencial da cultura. Isto se deve, em grande parte a não adoção das tecnologias de produção desenvolvidas para a cultura, por muitos produtores. Entretanto, soma-se a isso, a baixa disponibilidade de genótipos superiores e adaptadas às diversas regiões de produção (CERQUEIRA-SILVA et al., 2018).

Por ser uma planta de dias longos, o fotoperíodo, associado a baixas temperaturas, constitui um fator limitante no cultivo de maracujá, em regiões de maior altitude. A cultura possui uma exigência em torno de 2200 horas de luz anual, florescendo mais intensamente em regiões e épocas do ano, cujo dias possuem 11 horas ou mais de luminosidade (LIMA e BORGES, 2004; COSTA et al., 2008). Programas de melhoramento tem buscado selecionar genótipos de menor exigência luminosa e com maior tolerância a baixas temperaturas, visando expandir os plantios de maracujá também para as regiões com maiores latitudes do país (CAVICHOLI et al., 2006; CORDEIRO et al., 2019b).

Além desses fatores abióticos, os problemas fitossanitários constituem em um grande problema a ser superado na cultura, visto que a condição tropical do Brasil, de clima quente e úmido, possibilita condição ideal para o desenvolvimento de diversas pragas e doenças (RODRIGUES et al., 2016; MALHOTRA, 2017). Apesar dos programas de melhoramento ter como objetivo o desenvolvimento de genótipos com resistência aos agentes causadores de estresses na cultura, a maioria dos cultivares disponíveis no mercado ainda não dispõem de resistência as principais moléstias que limitam a cultura, o que exige dos produtores atenção especial para manutenção dos cultivos.

Ao longo dos anos, várias estratégias de melhoramento foram aplicadas no melhoramento do maracujazeiro. No início das pesquisas, a seleção massal foi a

primeira aposta dos melhoristas. A eficiência deste método está condicionada a existência de variabilidade, e que os caracteres sejam de fácil mensuração e possua considerável herdabilidade (BORÉM e MIRANDA, 2013). No caso do maracujazeiro, caracteres como formato do fruto, teor de suco, teor de sólidos solúveis totais e vigor vegetativo se encaixam bem neste quesito (NASCIMENTO et al., 2003). Caracteres de maior complexidade e de baixa herdabilidade exigem estratégias de seleção mais complexas. Devido à alta variabilidade na espécie, ganhos a partir da seleção direta tem sido relatado para vários outros caracteres relacionados aos frutos, como peso, largura, comprimento e rendimento de polpa. Além disso, ganhos indiretos em peso de fruto podem ser obtidos a partir da seleção para fruto com diâmetro equatorial (CHAGAS et al., 2016).

Vários outros métodos de melhoramento podem ser empregados no melhoramento do maracujazeiro, como introdução de plantas, seleção com teste de progênes e seleção recorrente (BRUCKNER, 2005; REIS et al., 2011). O método de seleção recorrente intrapopulacional visa o acúmulo de alelos favoráveis na população de melhoramento, a partir de ciclos de avaliação, seleção e recombinação dos indivíduos selecionados, para formação de populações melhoradas, e quando associada a ferramentas biométricas, pode proporcionar ganhos significativos aos programas de melhoramento (HALLAUER e MIRANDA FILHO, 1988). Apesar deste método ainda não constituir no principal método de melhoramento empregado na cultura do maracujazeiro, tem crescido o número de trabalhos com esta metodologia (SILVA et al., 2009; KRAUSE et al., 2012; FERREIRA et al., 2016; CAVALCANTE et al., 2018).

Em seleção com teste de progênes, no melhoramento do maracujazeiro, é comum a avaliação tanto de famílias de meios irmãos, como famílias de irmãos completos. São considerados famílias de meios irmãos, progênes oriundas de um único fruto, colhido de um genitor feminino, cujo genitores paternos são os diversos genótipos presentes na área que doaram pólen para formação do fruto (BRUCKNER et al., 2002). Família de irmãos completos são obtidas a partir do cruzamento controlados entre genitores específicos, assim se conhece ambos os genitores das progênes.

O estudo a nível de família é importante no melhoramento de plantas, principalmente quando visa manipular caracteres quantitativos, onde a genética quantitativa possui grande relevância (CRUZ et al., 2004). Neste contexto, geralmente

o melhorista busca, a partir da genética quantitativa, estimar parâmetros genéticos fundamentais para identificar a natureza da ação de genes envolvidos no controle dos caracteres quantitativos, como variância genética, correlação e herdabilidades. Para a estimação desses parâmetros, os testes devem ser realizados sob delineamentos estatísticos e delineamentos genéticos. Delineamentos genéticos são sistemas de cruzamentos no qual o pesquisador conhece a relação de parentesco entre os indivíduos, ou grupos de indivíduos. Vários delineamentos genéticos são descritos, como os dialelos, ensaios de famílias e delineamentos I, II e III de Comstock e Robinson (CRUZ & CARNEIRO, 2003).

O conhecimento da relação de parentesco é importante, pois as estimativas de variância genética, e conseqüentemente de herdabilidade são dependentes do tipo de família que é avaliado. Em geral, os programas de melhoramento do maracujazeiro são de iniciativas públicas e sofrem com a limitação de recursos para realização das atividades. Avaliações de progênies e manutenção de genitores em bancos de germoplasma constituem atividades relativamente onerosas aos programas, por demandar investimentos em infraestruturas, além de mão-de-obra constantes para tratamentos culturais. Pesquisas visando reduzir o número de avaliações em campo, com estudos de repetibilidade de caracteres ao longo do tempo (SANTOS et al., 2015; NEVES et al., 2015) e alternativas para manutenção de bancos de germoplasma, tais como armazenamento de sementes por criopreservação e manutenção de germoplasma *in vitro* (MELETTI et al., 2005) têm sido realizadas visando economia de recursos e acelerar os ganhos dos programas.

3.4. Marcadores moleculares no estudo da diversidade e caracterização genética em passifloras

A caracterização do germoplasma consiste em um dos primeiros passos para o estabelecimento de um programa de melhoramento. A caracterização visa diferenciar acessos, separar classes ou categorias, quantificar a variabilidade existente e identificar genótipos mais similares e divergentes na população, a partir de um conjunto de descritores, de natureza morfológica, bioquímica, fisiológica ou molecular; e tornam a utilização dos acessos mais efetiva (VALLS, 2007).

A caracterização morfológica, devido a facilidade e acessibilidade de mensurar certas características, tem sido mais utilizada. Para caracteres qualitativos ou fixos,

governados por um ou poucos genes, essa caracterização é eficiente e proporciona bons resultados, devido à pouca influência ambiental. Entretanto, ao avaliar caracteres quantitativos, governados por muitos genes, estes caracteres são fortemente influenciados pelo meio ambiente. Neste caso, as variações mensuradas podem ser devidas aos efeitos ambientais, e não por causas genéticas hereditárias (LEITE et al., 2016). Além disso, marcadores morfológicos apresentam limitação quanto a capacidade de discriminar pequenas diferenças entre genótipos, e também quanto ao tempo gasto para mensuração de algumas características, em especial em espécies perenes, cujo ciclo de vida é longo (FALEIRO, 2007).

Em contrapartida, marcadores moleculares, por acessar a informação a nível de DNA não sofrem influência ambiental, identifica grande número de polimorfismo e pode ser empregado em qualquer fase de desenvolvimento da planta, seja semente, plântulas ou na fase adulta (FALEIRO, 2007). Os marcadores moleculares podem ser aplicados em todas as etapas do melhoramento. No pré-melhoramento, os marcadores podem ser eficientemente aplicados para a caracterização dos acessos em bancos de germoplasma, mapeamento e identificação de genes de interesse. No melhoramento em si, significativos ganhos genéticos podem ser obtidos a partir da seleção assistida por marcadores, além de serem eficientes no direcionamento de cruzamentos, e permitir maximizar a obtenção de efeitos heteróticos. No pós-melhoramento, os marcadores podem ser aplicados em testes visando assegurar a autenticidade de cultivares, pureza genética de sementes e clones (PEREIRA et al., 2005).

No gênero *Passiflora*, a aplicabilidade dos marcadores moleculares é considerável na caracterização de espécies. Marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) (WELSH e MCCLELLAND, 1990) foram utilizados para estimar a diversidade entre acessos de maracujazeiro azedo (*P. edulis*) e outras nove espécies relacionadas do gênero. Os marcadores foram eficientes para caracterizar a baixa diversidade entre os acessos de maracujá azedo e agrupar as populações de acordo com sua região de origem, além de evidenciar a expressiva variabilidade entre as espécies (VIANA et al., 2003). Fonseca et al. (2009), com o objetivo de avaliar a recuperação de características do genitor recorrente de maracujazeiro em retrocruzamentos (RC4 e RC5), utilizaram marcadores RAPD na caracterização dos acessos, sendo os marcadores efetivos na elucidação de polimorfismos nos genótipos, devido ao cruzamento interespecífico, e na elucidação da dissimilaridade entre os genitores *P. edulis* e *P. setacea*.

Marcadores AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) (VOS et al., 1995) foram utilizados para estimar a diversidade entre 36 acessos de maracujazeiro azedo coletados em 18 estados brasileiros, e apresentou resultados consistentes, ao elucidar a ampla diversidade genética entre os acessos, e a não formação de estruturação geográfica (GANGA et al., 2004). AFLP também foi utilizado na caracterização da diversidade genética de 60 acessos de maracujazeiro roxo coletados em plantios comerciais da Colômbia, além de um exemplar de maracujazeiro roxo silvestre e mais quatro acessos de espécies do gênero *Passiflora*. Os marcadores AFLP foram eficientes para elucidar a baixa diversidade nos acessos de maracujazeiro roxo do país (ORTIZ et al., 2012).

Marcadores RGAs (marcadores análogos a genes de resistência) foram utilizadas na caracterização da diversidade genética em oito espécies de maracujazeiro silvestre, e evidenciaram expressiva diversidade entre os acessos (PAULA et al., 2010). Estes marcadores estão relacionados a regiões conservadas no genoma, conhecidas como NBS (domínio de ligação a nucleotídeos), e podem estar ligados a locos de genes de resistência, denominados também de análogos do gene R (KANAZIN et al., 1996; PAN et al., 2000; Madsen et al., 2003). Santos et al. (2011) avaliaram a diversidade genética entre 45 acessos de maracujazeiro roxo, azedo e doce a partir de marcadores ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*) (ZIETKIEWICZ et al., 1994) e concluíram que esses marcadores são eficientes para a caracterização da diversidade genética.

Dentre os diversos marcadores disponíveis, os marcadores microssatélites (ou SSR - *Simple Sequence Repeat*) (GUPTA et al., 1996) se destacam. Estes marcadores são amplamente distribuídos no genoma de organismos eucariotos e procariotos, e flanqueiam regiões microssatélites, ou seja, pequenas sequências de nucleotídeos (2 a 6 pares de bases), repetidas em tandem (SHI et al., 2013). Esses marcadores apresentam características que os tornam importantes para o melhoramento de plantas, tais como, alta reprodutibilidade, natureza codominante, neutralidade evolutiva e alto nível de polimorfismo gerado (BUSCHIAZZO e GEMMELL, 2010). Esses marcadores apresentam ainda outras vantagens como, facilidade de operação, rapidez, exige baixas quantidades de DNA, baixos custos de utilização, se quando comparados a outras técnicas biotecnológicas, grande poder de resolução e multialelismo (CHEN et al., 1997). A principal desvantagem são os altos custos envolvidos no desenvolvimento, por serem específicos (GIMENES et al. 2007).

Apesar dos marcadores microssatélites serem tidos como específicos, as regiões flangeadoras desses marcadores podem ser conservadas entre espécies próximas, ou até mesmo entre gêneros. Isto confere uma vantagem adicional a esses marcadores que é a possibilidade de realizar estudos de transferibilidade de *primers* para outras espécies (BRONDANI et al., 1998), e permite reduzir os altos custos e o laborioso trabalho no desenvolvimento desses marcadores em algumas espécies.

Essa técnica tem sido útil na caracterização molecular de espécies silvestres do gênero *Passiflora* que não possuem marcadores SSR desenvolvidos. Oliveira et al. (2013) avaliou a transferibilidade de 41 marcadores SSR desenvolvido para maracujazeiro azedo, para 11 espécies silvestres, e 21 destes foram transferíveis para todas as espécies. Silva et al. (2014) verificou a amplificação cruzada de sete marcadores desenvolvido para *P. alata* e de 24 marcadores desenvolvido para *P. edulis*, para cinco espécies silvestres de passiflora e observaram taxas de transferência de até 28,5% dos marcadores de *P. alata* e de até 62,5% dos marcadores de *P. edulis*.

O primeiro trabalho com o objetivo de desenvolver marcadores SSR em *Passiflora* foi realizado em 2005 (OLIVEIRA et al., 2005). Os autores desenvolveram 10 marcadores e validaram em 43 genótipos de *P. edulis*, provenientes de 12 acessos. O número de alelos por loco obtido variou de 1 a 20, com média de 5,3 alelos, o que mostrou a eficiência destes marcadores na caracterização de acessos de maracujazeiro. Em 2006, outros 107 *primers* foram desenvolvidos especificamente para *P. edulis* (OLIVEIRA, 2006). Em 2017, mais 57 marcadores SSR foram desenvolvidos para *P. edulis* (ARAYA et al., 2017), o que aumentou consideravelmente a quantidade de marcadores microssatélites disponíveis para estudos nesta espécie. Atualmente, diversos trabalhos estão sendo realizados utilizando marcadores microssatélites na caracterização de espécies do gênero *Passiflora*.

Dentre as aplicações desses marcadores no melhoramento genético, destacam-se a eficiência em estudos de diversidade genética e estrutura populacional, seleção assistida por marcadores, mapeamento genético, orientação de futuros cruzamentos e estudos genéticos. Oliveira et al. (2008) construíram um mapa molecular para maracujazeiro azedo usando marcadores microssatélites. Cordeiro (2017) avaliou a paternidade e a efetividade de genitores em progênies de meios irmãos de maracujazeiro utilizando marcadores SSR. Araújo (2018) estudou a diversidade genética de linhagens elites do programa de melhoramento de maracujazeiro azedo da UFV e das cultivares comerciais brasileiras de maracujazeiro azedo, via marcadores

SSR e identificou baixa diversidade genética entre os genótipos estudados. Devido as regiões conservadas, esses marcadores podem ser úteis em estudos de taxonomia e sistemática, devido a capacidade de detectar diferenças entre os táxons, pelo polimorfismo dos alelos (BORGES, 2016; TULER et al., 2015).

Marcadores SSR e RAPD foram utilizados para confirmar a paternidade de híbridos interespecíficos entre *P. gardineri* Mast e *P. gibertii* N. E. Brown (BELO et al., 2018). Silva et al. (2016) estudaram a estrutura genética de 81 progênies de *P. edulis* no terceiro ciclo de seleção recorrente, e os marcadores SSR foram eficientes na estruturação das progênies.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal, localizado no Setor de Fruticultura, pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa-MG. Duas progênes de irmãos completos, obtidas a partir de hibridação artificial, e uma progênie obtida por polinização aberta, foram genotipadas e a partir destas foi realizado o estudo da estrutura das populações e da diversidade genética.

4.1. Genitores e obtenção das progênes

Para obtenção das progênes de irmãos completos, dois pares de genótipos elites contrastantes pertencentes ao programa de melhoramento de maracujazeiro azedo da UFV e conduzidos na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão (UEPE), pomar de Araponga-MG, foram cruzados de forma controlada. A obtenção das sementes e a progênie de meios irmãos foi obtida por polinização aberta. Os genitores utilizados estão apresentados na Tabela 1.

A progênie 1 (PHA) foi obtida do cruzamento 4215/4-4 (P1) x 4715/2-2 (P2) e a progênie 2 (PHB) foi obtida do cruzamento 4215/1-3 (P3) x 4915/1-2 (P4) (Tabela 1). As flores dos genótipos destinadas ao cruzamento foram protegidas na antese, pela manhã, com sacos de papel. Após a abertura floral, o saco contendo pólen da flor doadora foi retirado, e então o pólen foi transferido para o estigma da flor receptora, com auxílio de uma haste de algodão flexível. Após a polinização, as flores foram novamente cobertas com sacos de papel para evitar contaminação com pólenes provenientes de outras plantas.

A progênie de polinização aberta (PPA) foi obtida no pomar de maracujazeiro azedo, conduzido na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão (UEPE), pomar de Araponga-MG. Uma planta escolhida de forma aleatória, foi marcada para constituir o genitor feminino (P5) (Tabela 1). Onze plantas no entorno, também foram marcadas de forma aleatória, e constituíram os possíveis genitores masculinos formadores da PPA (P6 ao P16) (Tabela 1), doadores de pólen. Uma flor do genitor feminino foi marcada quando o maior número de plantas possível ao redor estava na fase de floração. Esta estratégia foi realizada para que a progênie obtida do fruto fosse

representativa do fenômeno da polinização aberta. O pegamento do fruto foi verificado uma semana após a polinização, e então os mesmos foram ensacados com rede de náilon (BRUCKNER e OTONI, 2009).

Tabela 1. Relação dos genitores das progênies de irmãos completos PHA e PHB, e da progênie de meios irmãos PPA. P1, P2 e P5 genitores femininos de PHA, PHA e PPA, respectivamente. P2 e P4, genitores masculinos de PHA e PHB, respectivamente, P6 a P16, possíveis genitores masculinos de PPA.

Progênies	Genitores	Código	Nº de acessos genotipados	Estrutura genética
Progênie híbrida PHA	P1	4115/4-4	36	Irmãos completos
	P2	4715/2-2		
Progênie híbrida PHB	P3	4215/1-3	36	Irmãos completos
	P4	4915/1-2		
Progênie de polinização aberta PPA	P5	4715/3-5	45	Meios irmãos
	P6	SC 1-3		
	P7	GA 1-3		
	P8	GA 3-3		
	P9	4315/4-4		
	P10	4315/4-3		
	P11	4315/4-2		
	P12	SC 1-2		
	P13	4815/2-5		
	P14	4615/4-4		
P15	SC 1-4			
P16	4915/4-4			

Os frutos foram colhidos entre 65 e 90 dias após o cruzamento, quando apresentarem-se maduros, de acordo com o critério proposto Negreiros et al. (2006), ou seja, quando os frutos se apresentavam com no mínimo 5% da coloração amarela. Após a colheita, os frutos foram processados para retirada das sementes. Um corte transversal no fruto foi realizado, e então a polpa, juntamente com as sementes foram vertidas sobre uma peneira de malha fina, na qual foi adicionada cal virgem 10% e uma leve pressão foi realizada sobre as sementes, friccionando-as contra a malha da peneira, para retirada do arilo. Em seguida, as sementes foram lavadas em água corrente e a secagem feita em sombra por dois dias, sob temperatura ambiente e armazenadas a 4 °C (geladeira) até a semeadura.

A semeadura foi realizada em sacos de polietileno de 0,5 dm³ em substrato contendo latossolo vermelho, areia e substrato na proporção de 2:1:1, e conduzidas até a fase de muda, para retirada do tecido foliar.

4.2. Genotipagem

Para a extração de DNA, foram coletadas folhas jovens completamente expandidas de cada indivíduo a ser genotipado. A coleta foi realizada na parte da manhã, e as folhas foram acondicionadas em saco de papel, em caixa de isopor com gelo e conduzidas ao laboratório, onde foi conduzida a extração de DNA a partir do material fresco.

Assim, 200 mg de tecido vegetal foi macerado juntamente com o 700 µL tampão de extração e 4 µL de 2-mercaptoetanol (Doyle e Doyle, 1990) em macerador Tissue Lyser II (Qiagen®) por 10 min a 30 mHZ. O tampão de extração era composto de CTAB 2%, NaCl 1,4 M, EDTA 0,02 M, Tris-HCl pH 8,0 0,1 M e PVPP 1%, e proteinase K (1 mg.ml⁻¹), adicionado após a autoclavagem do tampão. O macerado foi levado ao banho-maria à 65 °C, por 30 minutos e homogeneizados suavemente a cada três minutos. Em seguida, o material foi deixado em descanso por 10 minutos a temperatura ambiente. Para a purificação, 700 µL da mistura de clorofórmio: álcool isoamílico: fenol (24:1:25) foi adicionada sobre o macerado e então o mesmo foi centrifugado a 2800g por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo de 1,5 µL, sendo este procedimento de purificação repetido por três vezes. Terminada a purificação, o sobrenadante foi transferido para um novo tubo de 1,5 µL, no qual foi adicionado 70 µL de Acetato de sódio (NaOAc) 3 mol.L⁻¹ e 700 µL de álcool isopropílico gelado para a precipitação do DNA. As amostras foram então deixadas em *overnight*, a temperatura de -20 °C.

No dia seguinte, as amostras foram centrifugadas a 18928g por 10 min, e a fase aquosa eliminada. Em seguida, o DNA foi lavado em álcool, sendo duas lavagens em 700 µL de etanol 70% gelado e centrifugação a 18928g por 15 minutos e duas lavagens em 700 µL de etanol 95% gelado e centrifugação a 18928g por 15 minutos. A eluição do DNA foi realizada em 100 µL de água deionizada, adicionado 1 µL de RNase 10 ng.µL⁻¹, aquecidos em banho-maria a 37 °C por 20 minutos. A concentração e qualidade do DNA foram verificadas por meio de leitura da absorbância em um

espectrofotômetro de microplacas (MultiskanTM GO), nos comprimentos de onda 230, 260, 280 nm.

O DNA purificado foi amplificado com 27 *primers* microssatélites (SSR) desenvolvidos por Oliveira (2006) e Cerqueira-Silva et al. (2014) para *P. edulis* (Tabela 2). Para reação em cadeia de polimerase (PCR), foi preparado um mix de reagentes nas seguintes concentrações: 40 ng de DNA; tampão 1X (500 mM de KCl; 100 mM Tris-HCl pH 8,4; 1% Triton X-100); 1,5 mM de MgCl₂; 0,25 μM de cada dNTP; 0,3 μM de cada *primer*; 0,6 U de Taq DNA polimerase. A amplificação dos fragmentos foi realizada em termociclador Veriti®, sob a seguinte condição: desnaturação a 94 °C por 4 min, seguido de 10 ciclos de *touchdown* PCR com desnaturação a 94°C por 40 s, anelamento a 61 °C, com decréscimo de 0,5 °C por ciclo, por 40 s e extensão a 72 °C por 50 s. Em seguida, mais 28 ciclos com desnaturação a 94 °C por 1 min, anelamento a 58 °C por 1 min e extensão a 72°C por 1 min foram realizados, seguido de extensão final a 72°C por 7 minutos.

Os fragmentos amplificados foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante 6%, a 60 watts, 1750 volts e 60 mA por 2 h. Os produtos da amplificação foram corados com nitrato de prata 2%.

4.3. Análises estatísticas

Os dados moleculares foram analisados como marcador codominante e tabulados de acordo com o número de alelos em cada loco, a partir do qual foi gerada uma matriz de distância multivariada entre os indivíduos para o estudo da diversidade, e agrupamentos das progênes. Em cada população foi calculado a frequência alélica, frequência de heterozigotos (Ho) e conteúdo de informação polimórfica (PIC) observado e estimado para cada marcador. A diversidade entre e dentro das progênes foi estudada pela análise de variância molecular (AMOVA) de Excoffier (1992).

Para construção da matriz de distância para o estudo da diversidade entre e dentro das populações, foi considerado o complemento do índice ponderado de Nei (D = 1-S). Em que, S é dado por:

$$S_{ii'} = \frac{1}{2} \sum_{j=1}^L P_j C_j, \text{ onde:}$$

$P_j = \frac{a_j}{A}$: peso associado ao loco j, determinado por:

a_j : número total de alelos do loco j

A: número total de alelos estudados.

Sendo, $\sum_{j=1}^L P_j = 1$

C_j: número de alelos comuns entre os pares de acessos.

O *software Structure* (PRITCHARD et al., 2000) foi utilizado para estudar a estrutura populacional das três progênies e encontrar um valor de K grupos que melhor representasse as três progênies, com base em abordagem bayesiana. Foram utilizadas 2500 interações no *burn-in* e 7500 iterações no MCMC (*Markov Chain Monte Carlo*). Foi utilizado um modelo de mistura com frequência dos alelos correlacionados. O número de agrupamentos testados foi de 1 a 6 ($6 = p+3$, onde p representa o número de populações reais), com 20 repetições para cada K testado. Para a determinação do melhor K foi utilizado o critério ΔK descrito por Evanno et al. (2005), no *software Structure Harvester* (EARL e VONHOLDT, 2012).

As análises descritivas e AMOVA foram realizadas com auxílio do *software* estatístico Genes (CRUZ, 2013). A matriz de distância e os agrupamentos foram realizados no *software* R (KAMVAR et al., 2014; YU et al., 2017). Para o agrupamento foi utilizado o método da ligação média entre grupos (UPGMA), e o ponto de corte foi determinado de acordo com o critério de Mojena (1977), considerando k igual a 1,25.

Tabela 2 - Sequência dos 27 pares de *primers* microssatélites desenvolvidos para *P. edulis* por Cerqueira-Silva et al. (2014) (*primers* mPe-UNICAMP01 e mPe-UNICAMP02) e por Oliveira (2006) (demais pares de *primers*), motivo e tamanho do alelo esperado, usados na caracterização genotípica das progênies.

Marcador	Primer forward	Primer reverse	Motivo	Tamanho (pb)
mPe-UNICAMP01	CCTGTCGGAAAGACTTCTGC	GGATCGTTGTGGAGTGTGGT		230-232
mPe-UNICAMP02	TCGAGTGAGATTGGCAGTG	TTGGCTTCGAGGAGAAGAA		165-178
PE03	GCAGCGAGGGAAGAAAA	TGAGACATCGTGCGTGAA	(GA) ₁₀	156
PE04	ATGCTTTTGAAATCCGTTT	TGCTCATGCAAAGTCACTGG	(TG) ₉	235
PE05	GCGGGATTCTCTTGGCTTAC	TAATCTCAGCTGGGTTTGGT	(TC) ₄ C(TC) ₆ CC(TC) ₁₁	211–223
PE06	AGCGGGGAGGAGAGTAGC	GCCTGATGTCAAAAACACAG	(CA) ₇	187
PE07	TGCTCATTGATGGTGCTTG	TCGTCTCTTCTCCTCCTTCA	(GA) ₂₃	138
PE08	CCGGATACCCACGCATTA	TCTAATGAGCGGAGGAAAGC	(GTTGTG) ₄	282
PE11	GCATAAGTTGTCGGTCTTGG	CCTCGAACCTCTATCATCCA	(GT) ₁₁	178
PE12	CGTAATATTTGTTTGGGCACT	ATCATGGGCGAACTCATTT	(TG) ₈	150
PE13	AAGCACCCCAATCGTTGA	CCCCCTGCCACCTGAGTA	(GT) ₆	172
PE18	CCGTGAACCAACCATTTCTC	TTGCAGCACAACAAGTCAA	(TG) ₉	220
PE20	AGGATCACCATAGAAAACCAT	GTTAGGTTGGCATTGCTCTT	(AAAC) ₄	242
PE23	CAATCCCTTGACCCATAGA	CGTCCATCCTTCTCCTTT	(GA) ₁₉	206
PE24	TCAAAGTGAAGTTCGTAAGG	GTGCTGGGAGACTGATGTT	(CA) ₁₅	294
PE27	TTGCTCATTGCACTCATCCT	GCAGACATTTCTGGAGCA	(GT) ₇	139
PE35	ATTATGCCTAAAAACCCAAA	TGATCCAGAGGTTGAGAGG	(CA) ₉	225

Continua...

Loco	<i>Primer forward</i>	<i>Primer reverse</i>	Motivo	Tamanho (pb)
PE37	CAAAAGGATAGGCCTGATGTC	TGCTGGTCATCCACTGAAG	(TG) ₈	232
PE38	GATCGGTCCTCGGTTAGAC	AGTCACACAGCATGAGAAATC	(TG) ₈	215
PE41	ATCGGGGTTTCGCTTATTTG	CGTTCATCCTTTAGTGGGCTA	(TTAA) ₅	220
PE42	GTCACCTCATTCTTCCTTTCC	TTAGCCCACTCAAACACAA	(GT) ₈	216
PE54	TGGTGTGTGTGGGTGATTAG	CATTCTCCTGCCACCTGAGT	(TG) ₇	176
PE58	GCAATTTACCATCTTCTGCT	CCACGGTCATGGATGTTC	(AC) ₁₁	243
PE66	CCATAGTCCCAACAAGCATC	GCTGTGGACCCTAACTCAGTC	(AC) ₉	165
PE74	CCCTCTTATCAATAGCGTTGG	GCACGAGCACGAGTATTTATT	(ATCACA) ₅	215
PE90	TCAGGAAGATTGCATGTTAGT	CTGGGTTTTGTTTATGTTGC	(AGC) ₅	245

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Qualidade das ampliações, perfil genético e heterozigiosidade das progênies estudadas

Dos 27 pares de *primers* SSR testados, 18 pares apresentaram amplificação, contendo bandas bem definidas. Desses, oito pares apresentaram polimorfismos entre os genitores das populações estudadas. Os demais foram monomórficos ou apresentaram alta proporção de bandas inespecíficas, o que inviabilizou a utilização no estudo das progênies. O número de alelos por loco variou de 2 a 3 alelos, e um total de 20 alelos diferentes foram encontrados, o que resultou em uma média alélica de 2,5 alelos por loco. O padrão de amplificação do *primer* PE42 na progênie PHA ilustra a qualidade das bandas obtidas, na figura 1.

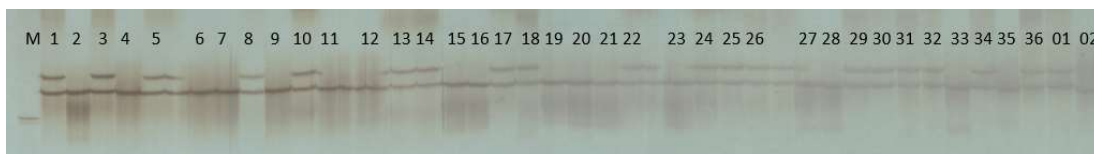


Figura 1. Padrão de amplificação do *primer* SSR PE42 na progênie PHA e seus parentais. M: Marcador de peso (100pb). Números 1 ao 36 representa os indivíduos PHA1 ao PHA36 da progênie PHA. 01 e 02 representa os parentais P1 (genitor feminino 4115/4-4) e P2 (genitor masculino 4715/2-2) da progênie PHA, respectivamente.

Pelo perfil genético molecular das progênies (Tabela 3) é possível observar as combinações alélicas encontradas nas progênies para cada marcador utilizado. Nas progênies PHA e PHB observou-se a ocorrência de um ou dois alelos por loco, e o número de genótipos variando de um a três. Na Progênie PPA observou-se maior diversidade alélica, onde os *primers* PE08 e PE24 apresentaram até três alelos por loco. As progênies PHA e PHB apresenta um maior número de alelos comum entre si, do que quando comparados a PPA. Nesta progênie foram observados alelos amplificados nos *primers* PE08, PE24 e PE27, não encontrados nas progênies híbridas.

A menor de porcentagem de alelos comuns entre as progênies híbridas e as progênie de polinização aberta pode estar relacionada a formação das progênies, tendo em vista que a progênie de polinização aberta é constituída por meios irmãos maternos, e há a contribuição de diversos genitores paternos na formação desta progênie,

enquanto a progênie híbrida é constituída a partir do cruzamento de apenas dois genitores. É importante salientar que não necessariamente a maior riqueza alélica observada em PPA, refletirá em maior frequência de heterozigotos nessa progênie.

Tabela 3. Perfil genético molecular das progênies híbridas PHA e PHB e da progênie de polinização aberta PPA, obtido a partir das combinações alélicas observadas para cada loco.

Progênies	Marcadores microsatélites							
	PE02	PE07	PE08	PPE12	PE18	PE24	PE27	PE42
HS	12 22	22 23 33	11 13 33	12 22	11 12	11	22	12 22
HST	12 22	11 12 22	11 13 33	12 22	11	11 12	22	12 22
PA	11 12 22	11 12 22	11 12 13 23 33	12 22	11 12	11 12 13 22 33	11 12 22	12 22

A média alélica de 2,5 alelos por loco encontrada, está de acordo com resultados encontrados em outros trabalhos na literatura. Apesar do maracujazeiro constituir-se em uma planta essencialmente alógama (BRUCKNER et al., 2005), tem-se observado que ao estudar acessos pertencentes a determinados programas de melhoramento, ou ao estudar variedades comerciais, que possuem maiores graus de seleção, como as progênies aqui estudadas, a riqueza alélica e o número de alelos por loco encontrados tem sido baixa, e possivelmente a baixa média alélica encontrada neste trabalho esteja relacionado ao grau de seleção dos genótipos estudados. Por outro lado, quando os estudos envolvem genótipos provenientes de regiões com menores níveis de seleção, ou até mesmo quando envolve genótipos advindos de outros países, a riqueza alélica tem sido maior, com maior número de alelos por loco (CERQUEIRA-SILVA et al., 2014).

Outros estudos conduzidos no programa de melhoramento de maracujazeiro azedo da UFV e em outros programas, também demonstraram esse estreitamento da base genética dos acessos de *P. edulis*. Cordeiro (2017), estudando progênies de maracujazeiro amarelo pertencentes ao programa de melhoramento de maracujazeiro azedo da UFV, encontrou média alélica de 2,8 alelos por loco. Araújo (2018), ao caracterizar cultivares comerciais e linhagens também pertencentes ao programa de melhoramento de maracujazeiro azedo da UFV, encontrou média de 2,6 alelos por loco. Na UENF, Reis et al. (2011) estudando a diversidade genética de progênies de maracujazeiro azedo, encontraram média de 2,46 e 2,30 alelos por loco, no primeiro e segundo ciclo de seleção recorrente, respectivamente. Araya et al. (2017) encontraram

média de 3,26 alelos por loco ao testar a eficiência de 57 marcadores microssatélites em 10 acessos de maracujazeiro azedo.

Por outro lado, resultados diferentes dos encontrados no presente trabalho são encontrados quando os trabalhos envolvem acessos menos selecionados, e maior diversidade alélica é observada. Cerqueira-Silva et al. (2015), estudando acessos de maracujazeiro provenientes de diversos estados brasileiros e alguns acessos estrangeiros, encontraram média alélica de 5,52 alelos por loco, assim como Oliveira (2006) estudando a F₂ obtida a partir do cruzamento de genitores contrastantes de origem distintas, encontrou média de 7,6 alelo por loco. Ocampo et al. (2017), ao estudarem os acessos colombianos de *P. edulis*, detectaram de 6 a 18 alelos por loco, porém, é importante salientar, que o estudo foi realizado nos acessos distribuídos em diversas regiões da Colômbia e alguns acessos advindos de outros países, sendo esperado uma riqueza alélica maior. Esses mesmos autores, ao estudarem a diversidade entre os acessos, considerando as diversas regiões de origem, verificaram 1,61 e 2,8 alelos por loco, valores próximos aos encontrados no presente trabalho.

Estes resultados demonstram que em geral, os programas de melhoramento de maracujazeiro têm trabalhado com acessos de base genética estreita, e evidencia a necessidade de incorporar novos genótipos em blocos de cruzamentos, a fim de aumentar a variabilidade genética. Costa et al. (2012) encontraram menor número de bandas em populações de *P. edulis* melhoradas do que em populações de banco de germoplasma e sugerem que alelos podem ter sido perdidos devido a processos de seleção, podendo ser recuperados por meio de novos cruzamentos.

O estreitamento da base genética dos acessos de *P. edulis* nos programas de melhoramento, demonstrado neste trabalhos e nos trabalhos citados acima, pode ser explicado pelas exigências de mercado, quanto a qualidade de frutos, produtividade, e a necessidade de selecionar genótipos quanto a tolerância a pragas e doenças, que leva ao estreitamento da base genética dos acessos estudados (ARAUJO, 2018). Reis et al. (2011) atribuíram a baixa diversidade alélica encontrada em seu trabalho, ao fato de que os genótipos estudados no programa serem originados de variedades comerciais já utilizadas na região a longo tempo, e, portanto, apresentam estreita base genética. Segundo Lopes et al. (2015), redução da variabilidade genética tem ocorrido em diversas culturas melhoradas, como é o caso do trigo, e ocorre devido a seleção praticada para caracteres de interesse, e a estreita base genética dos acessos explorados.

No presente trabalho, nas progênies PHA e PHB, 75% dos marcadores evidenciaram locos em heterozigose, enquanto na progênie PPA, todos os marcadores evidenciaram locos em heterozigose. No entanto, na progênie PPA, alguns locos apresentaram frequência de heterozigotos menores que 0,1 (locos PE12, PE27 e PE42), o que não foi observado em PHA e PHB, onde todos os locos em heterozigose apresentaram frequência de heterozigotos superiores a 0,3.

Valor máximo de heterozigose observado foi de 0,53, 0,62 e 0,58 nas progênies PHA, PHB e PPA, respectivamente. Os valores médios de heterozigose foram 0,33, 0,40 e 0,26 em PHA, PHB e PPA, respectivamente, e evidenciam que as progênies híbridas, apesar de apresentarem alguns locos em homozigose, conseguiram expressar maior heterozigose média, em relação a PPA (Tabela 4).

Os valores de PIC para a maioria dos marcadores foi máximo ou próximo do valor máximo nas três populações, com valores obtidos nos locos heterozigóticos de 0,25 a 0,37 na progênie PHA, 0,29 a 0,37 na progênie PHB, e em PPA os valores variaram de 0,05 a 0,41. Exceção é observada nos locos PE24 e PE27 em PHA, e nos locos PE18 e PE27 em PHB, que apresentaram PIC igual 0, por serem homozigotos nessas progênies. Apesar dos valores de PIC obtidos serem considerados moderadamente informativos (BOTSTEIN et al., 1980), os marcadores foram eficientes na caracterização das progênies.

Ressalta-se que o número de alelos encontrados, bem como a heterozigosidade podem variar entre diferentes trabalhos para a mesma espécie em estudo, visto que cada população estudada possui características peculiares, que leva a alterações nesses fatores. O grau de seleção na qual uma população se encontra é um dos principais fatores que podem levar a alterações nesses índices.

Tabela 4. Alelos por loco, frequência dos alelos A1, A2, A3, heterozigidade observada, conteúdo de informação de polimorfismo observado (PIC) e máximo (PICmax) nas progênes PHA, PHB e PPA.

Progênie	Loco	Alelos/loco	A1	A2	A3	Ho	PIC	PICmax
PHA	PE02	2	0,22	0,78	0	0,45	0,29	0,38
	PE07	2	0	0,47	0,53	0,42	0,37	0,38
	PE08	2	0,53		0,47	0,53	0,37	0,38
	PE12	2	0,18	0,82	0	0,37	0,26	0,38
	PE18	2	0,81	0,19	0	0,38	0,26	0,38
	PE24	1	1	0	0	0	0	0
	PE27	1	0	1	0	0	0	0
	PE42	2	0,26	0,74	0	0,53	0,31	0,38
	Média					0,33	0,23	
PHB	PE02	2	0,32	0,68	0	0,63	0,34	0,38
	PE07	2	0,43	0,57	0	0,55	0,37	0,38
	PE08	2	0,46	0	0,54	0,45	0,37	0,38
	PE12	2	0,28	0,72	0	0,55	0,32	0,38
	PE18	1	1	0	0	0	0	0
	PE24	2	0,76	0,24	0	0,47	0,3	0,38
	PE27	1	0	1	0	0	0	0
	PE42	2	0,28	0,72	0	0,55	0,32	0,38
	Média					0,4	0,25	
PPA	PE02	2	0,46	0,54		0,49	0,37	0,38
	PE07	2	0,07	0,93		0,11	0,12	0,38
	PE08	3	0,29	0,06	0,65	0,58	0,42	0,59
	PE12	2	0,02	0,98		0,04	0,03	0,38
	PE18	2	0,94	0,06		0,12	0,11	0,38
	PE24	3	0,54	0,39	0,06	0,63	0,45	0,59
	PE27	2	0,94	0,06		0,05	0,05	0,38
	PE42	2	0,04	0,96		0,07	0,07	0,38
	Média					0,26	0,21	
	Média geral	2,5				0,46	0,2	

5.2. Estrutura populacional das progênes

Ao caracterizar a distribuição da variabilidade genética entre e dentro das populações por meio da AMOVA, é possível observar que ao analisar as três progênes conjuntamente, maior porcentagem da variação está contida dentro das progênes (Tabela 5). Ao comparar as progênes aos pares, em todas as comparações maior parte

da variabilidade genética também está contida dentro das progênes. Maior variabilidade genética entre progênes foi observada ao comparar as progênes PHA e PPA, em que a variabilidade entre correspondeu a 38,9% e dentro foi 61,1%.

Tabela 5. Análise molecular de variância (AMOVA), comparando porcentagem da variância entre e dentro das progênes estudadas.

Fonte de Variação	Comparações (%)			
	PHA x PHB x PPA	PHA x PHB	PHA x PPA	PHB x PPA
Entre	30,97	24,83	38,9	25,67
Dentro	69,03	75,17	61,1	74,33

Progênes híbridas são obtidas por cruzamentos controlados, assim esperava-se que PHA e PHB apresentassem um perfil genético próprio, restrito aos seus genitores, e, portanto, maior diversidade genética seria encontrada entre as progênes, visto que as mesmas apresentariam menor porcentagem de alelos comuns. A menor variabilidade entre, nas progênes híbridas (PHA e PHB), pode ser devido ao fato destas progênes compartilharem genitores aparentados, visto que os genitores femininos de ambas as progênes híbridas, P1 (4215/1-4) e P3 (4215/1-3), respectivamente, são descendentes de genitores aparentados, que leva as populações a terem alta porcentagem de alelos comuns entre si, reduzindo a variabilidade entre as progênes. Além disso, a alta frequência de heterozigotos, devido a hibridação tende a aumentar a variabilidade dentro das progênes (GADISSA et al., 2018).

A menor porcentagem de alelos comuns entre progênes, tende a aumentar a porcentagem da variação entre as progênes (COSTA et al., 2012). Assim, como foi observado alelos ocorrentes em PPA, que não estavam presentes nas progênes híbridas, era de se esperar que ao comparar PPA com estas progênes, maior variabilidade fosse encontrada entre as progênes, devido a menor porcentagem de alelos comuns. Entretanto, nos resultados obtidos, em todas as comparações, maior porcentagem da variação é observada dentro das progênes. Em PHB x PPA maior variação dentro pode ser porque o genitor masculino de PHB (P4) (4915/1-2) mantém relação de parentesco com o genitor feminino de PPA (P5) (4715/3-5), reduzindo o distanciamento entre estas progênes. Entre PPA e PHA, em que os genitores não mantém relação de parentesco, observa-se um aumento da proporção da variação entre

as progênies. Ainda assim, maior proporção da variação é encontrada dentro destas progênies, e possivelmente devido ao alto grau de seleção das progênies trabalhadas.

Ao avaliar a estrutura genética para determinar os padrões de diferenciação das três progênies, pela abordagem bayesiana utilizando o critério do ΔK de Evanno et al (2005), observa-se que o número mais provável de grupos para diferenciar as progênies é $K=2$ (duas populações) (Figura 2). Ao avaliar a estrutura genética das progênies com $K=3$ (Figura 4A), é possível visualizar que as progênies PHB (em verde) e PPA (em azul) possuem maior semelhança genética entre si, enquanto PHA (vermelho) tende a diferenciar destas duas progênies. O genitor feminino de PPA (4715/3-5) (indivíduo 77 na Figura 4A) apresenta um perfil genético mais próximo a progênie PHB, possivelmente pela relação de parentesco com o genitor masculino 4915/1-2 da progênie PHB (indivíduo 40 na Figura 4A). Além disso, outros possíveis genitores da progênie PPA possuem relação de parentesco com PHB, como o genótipo P16 (4915/4-4) (indivíduo 88 na Figura 4A), que pode ter aumentado a similaridade genética destas progênies. Assim, pode-se concluir que não necessariamente, menor variação entre as progênies, como observado pela AMOVA, leva a uma estrutura genética semelhante.

Ao considerar $k=2$ (Figura 3B), é possível verificar a influência da relação de parentesco na estrutura genética da população. Como PHB possui relação de parentesco com ambas as progênies, observa que seu perfil genético pode ser considerado intermediário entre as duas estruturas populacionais hipotéticas consideradas (41 a 76, figura 3B). Por outro lado, PHA (3 a 38, figura 3B) e PPA (89 a 133, figura 3B), mantém um perfil genético mais característico, possivelmente por não possuir relação de parentesco entre si. A proximidade de PHB, com as demais progênies, e portanto não possuir um perfil genético próprio, pode ser responsável pela estruturação das progênies com k igual a 2.

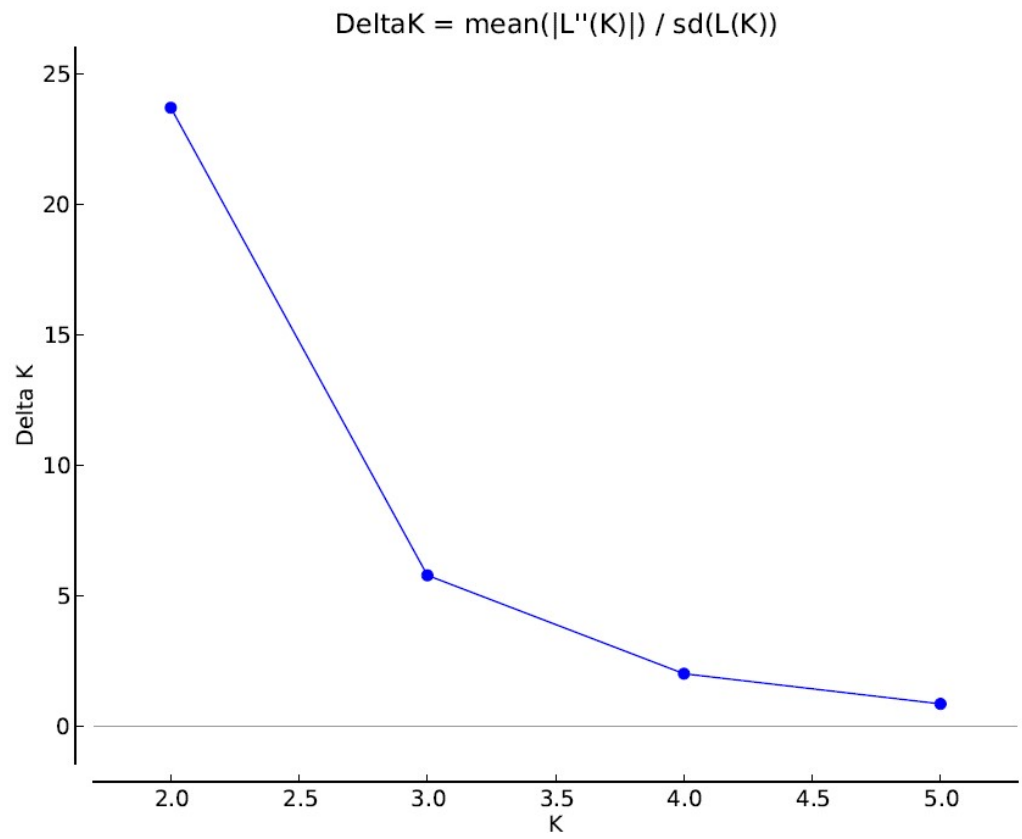


Figura 2. Estimativa das probabilidades de K, a partir do método de Evanno et al. (2005).

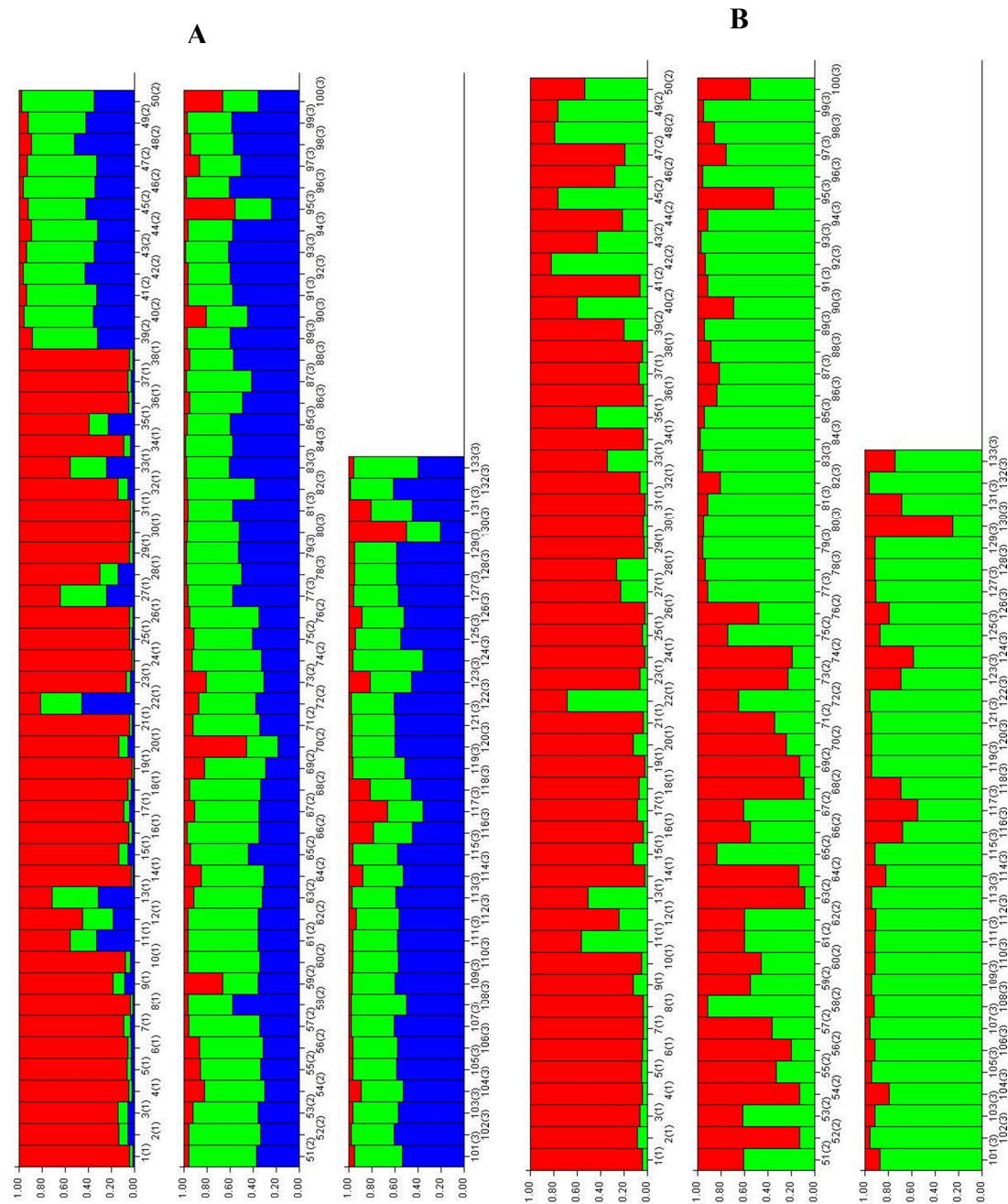


Figura 3. Barplots mostrando a estrutura da diversidade genética dos 133 genótipos de maracujá azedo pertencentes as três progênie estudadas, usando o programa *Structure*, baseada no modelo bayesiano da estrutura populacional, com K=3 (A) e K=2 (B). Cada indivíduo das progênie é dividido no número de populações hipotéticas, proporcionalmente ao seu perfil genético, expresso pela escala que varia de 0 a 1, abaixo nas figuras. 1 e 2, são os genitores femininos e masculinos de PHA, 3 a 38 são genótipos da progênie PHA; 39 e 40 são genitores femininos e masculinos de PHB, 41 a 76, genótipos da progênie PHB; e 77, genitor feminino de PPA, 78 a 88, possíveis genitores masculinos de PPA, 89 a 133 genótipos da progênie PPA.

5.3. Diversidade inter e intra progênies

Ao avaliar o comportamento da diversidade genética entre os 16 genótipos parentais das três progênies, é possível observar a formação de quatro grupos distintos (Figura 4). Os possíveis genitores de PPA se agruparam em sua maioria em um grupo constituído de nove indivíduos. O genótipo P6 se agrupou sozinho e os genótipos P7 e P8 se agruparam juntos. Os genitores das progênies híbridas PHA (P1 e P2) e PHB (P3 e P4) se agruparam em apenas um grupo, entretanto é possível observar uma maior proximidade entre P1 e P3, e entre P2 e P4, possivelmente pela relação de parentesco entre esses indivíduos. De fato, P1 e P3 possui maior similaridade (0,82), do que P1 e P2 (0,79), da mesma forma, P2 e P4 são mais similares entre si (0,79), do que P3 e P4 (0,76).

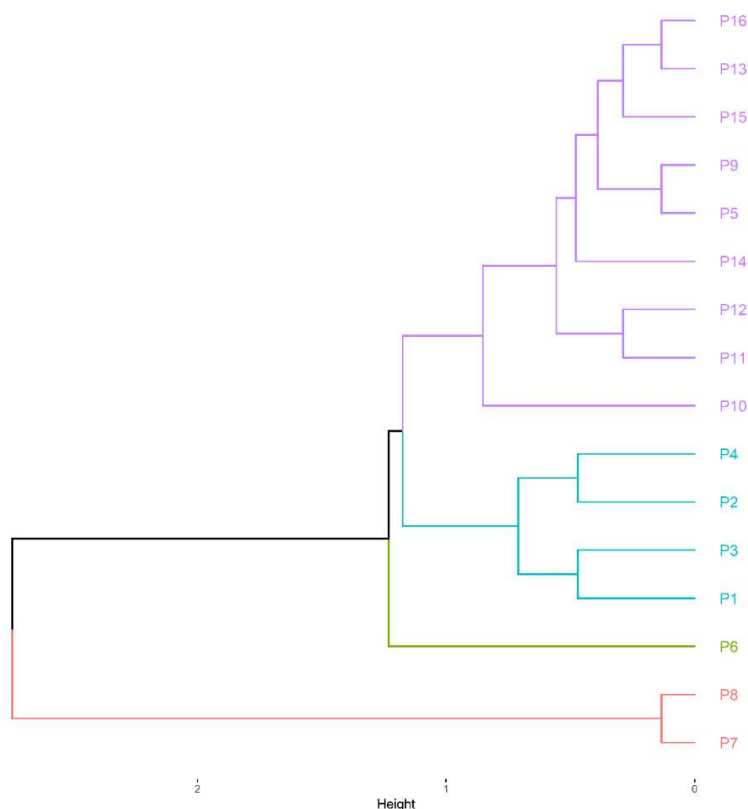


Figura 4. Agrupamento para os genótipos parentais das progênies PHA (P1 e P2), PHB (P3 e P4) e dos possíveis genitores de PPA (P5 a P15), obtido a partir do complemento do índice de similaridade de Nei, a partir do método hierárquico da ligação média entre grupos (UPGMA), com números de grupos definidos a partir do método de Mojena (1977), com $k = 1,25$.

Apesar da relação de parentesco entre P4 (genitor masculino de PHB) e P5 (genitor feminino de PPA), estes não se mostraram tão próximos no agrupamento, mas a similaridade entre estes genótipos é de 0,82, e evidencia que eles são muito próximos geneticamente, apesar de não se agruparem próximos no agrupamento. A distância média entre os pais foi 0,38, e a maior distância observada foi entre os genitores P6 (SC 1-3) e P10 (4315/4-3), de 0,68, ambos, possíveis genitores de PPA. O distanciamento entre estes genitores era esperado, visto que 4315/4-3 constitui em genótipo elite do programa de melhoramento de maracujazeiro da UFV, e SC 1-3 tem origem da variedade comercial BRS Sol do Cerrado, justificando seu agrupamento isolado dos demais genótipos. Outro possível genitor da progênie PPA originado da variedade comercial é o P15 (SC 1-4), entretanto este genótipo se agrupou juntamente com a maioria dos demais possíveis genitores de PPA, não se destacando, como SC 1-3. A menor distância foi observada entre os genitores P7 (GA 1-3) e P8 (GA 3-3), ambos originados da variedade comercial BRS Gigante Amarelo, e entre P9 (4315/4-4) e P13 (4815/2-5), ambos genótipos elite do programa de melhoramento de maracujazeiro da UFV, em que a distância foi de 0,08, e todos possíveis genitores da progênie PPA.

Ao agrupar os indivíduos de cada progênie separadamente para estudar o comportamento da diversidade, é possível observar diferença no arranjo da diversidade genética em cada progênie. Na progênie PPA, juntamente com os possíveis genitores, observa-se a formação de oito grupos (Figura 5). A maior parte dos genótipos se agruparam em apenas um grupo, juntamente com alguns genitores. Apenas PPA20, PPA36 e PPA45 se agruparam em um grupo a parte, juntamente com o parental P14, e os genótipos PPA31 e PPA42, que se agruparam isoladamente. Os demais quatro grupos são constituídos pelos possíveis genitores P6, P10 e P15 que se agruparam isoladamente, e P7 e P8 que se agruparam juntos. Nos genótipos PPA31 e PPA42, é observado a presença de alelos exclusivos dos parentais P8 e P10, respectivamente, e justifica o afastamento destes genótipos em relação aos demais, visto que P8 e P10 também se agrupam distantes dos demais indivíduos desta progênie.

autofecundação, cruzamentos entre indivíduos aparentados e baixo número de genitores masculinos efetivos no processo de fecundação e formação da progênie (MORI et al., 2013).

Devido a autoincompatibilidade do maracujazeiro, a autofecundação não ocorre naturalmente (BRUCKNER et al., 2005). Cruzamentos entre genitores aparentados podem ter ocorrido, visto que a população estudada possuía alguns indivíduos, usados com parentais, que têm origens comuns, entretanto o coeficiente de endogamia foi negativo ($f = -0,04$), o que evidencia a tendência a exogamia, ao invés de endogamia na população. Assim, o que fica mais evidente nos resultados aqui obtidos, é o baixo número de genótipos masculinos que participaram efetivamente na formação da progênie. É importante reforçar que a polinização no maracujazeiro azedo é do tipo entomófila, a partir de vespas do gênero *Xilocopa* (MARCO FILHO, 2005; SIQUEIRA et al., 2009), e assim, pode apresentar uma polinização mais restrita, e dificultar a participação de genitores mais afastados no campo na formação da progênie (CORDEIRO, 2017), visto que a dispersão limitada do pólen tende as plantas mais próximas a intercruzarem (WAGENIUS et al., 2010)

Cruzamentos correlacionados conduz a ocorrência de maior proporção de irmãos completos na progênie. Conseqüentemente, aumenta o coeficiente de coancestria dentro da progênie, e reduz o tamanho efetivo de variância da população, o que leva a necessidade de coletar maiores tamanhos amostrais para representação da variabilidade populacional a ser usada em programas de melhoramento ou de conservação (MORI et al., 2013). Segundo Cordeiro (2017), progênies de meios irmãos obtidos a partir de um fruto, não é suficiente para representar a composição genotípica da população de origem, sendo necessário amostrar maior número de frutos para melhor representação, o que conseqüentemente aumentaria o tamanho das progênies a serem avaliadas. No presente trabalho, alelos exclusivos dos genitores P8 e P10 é observado apenas nos genótipos PPA31 e PPA42, e evidencia a baixa representatividade destes genótipos na progênie, e possivelmente seriam mais representados em amostras maiores.

Ao avaliar a diversidade genética nesta progênie desconsiderando os parentais poucos efetivos na formação das progênies (P6, P7, P8, P10 e P15) e os genótipos mais distantes PPA31 e PPA42, nota-se que os indivíduos da progênie se apresentam mais bem distribuídos nos sete grupos formados (Figura 6), e elucida a diversidade genética na progênie relacionada aos genótipos parentais efetivos na formação da progênie. Os

indivíduos antes considerados nas análises, além de serem muito distantes das progênes, limitavam a elucidação da diversidade genética entre os demais genótipos dentro desta progênie.

Apesar de haver uma redistribuição dos indivíduos na formação dos grupos após a exclusão, observa-se que muitos indivíduos ainda continuam muito próximos geneticamente, especialmente os indivíduos do maior grupo, como os indivíduos PPA3, PPA15, PPA18, PPA22, PPA27, muito próximos entre si e aos parentais P5 (genitor feminino) e P9 (possível genitor masculino), com distância entre si igual a zero ou próxima de zero na matriz de distância. Entretanto, é possível observar também que genótipos de subgrupos diferentes, dentro do mesmo grupo apresentam valores de dissimilaridades maiores, como entre PPA1 e PPA39, com distância de 0,4 entre si. A maior distância observada dentro da progênie PPA foi de 0,46, entre P12 e PPA7, PPA7 e PPA20, PPA7 e PPA44, e PPA9 e PPA20. Distância igual a zero foi observada entre 42 pares de indivíduos, e a distância média entre os genótipos foi de 0,2.

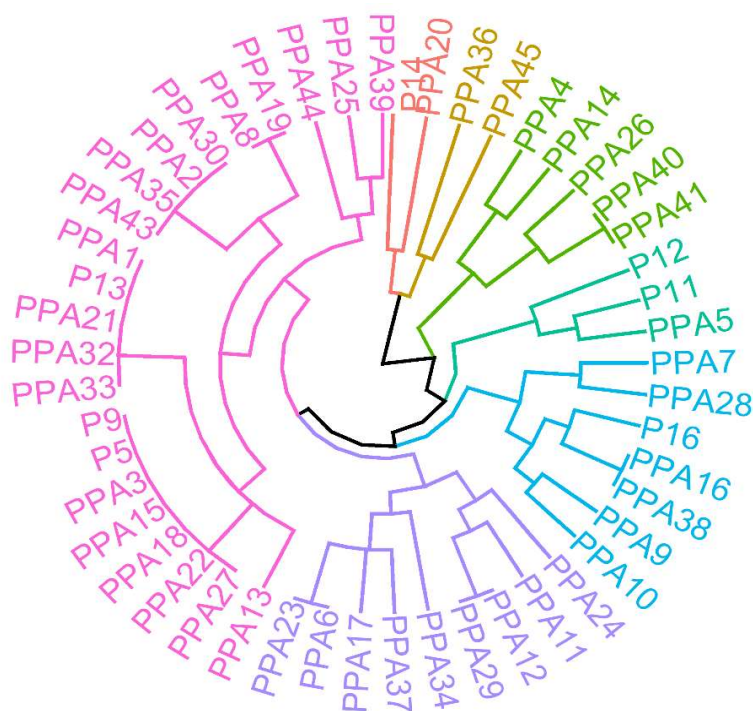


Figura 6. Agrupamento para os indivíduos da progênie PPA obtido a partir do complemento do índice de similaridade de Nei, a partir do método hierárquico da ligação média entre grupos (UPGMA), com números de grupos definidos a partir do método de Mojena (1977), com $k = 1,25$, após a exclusão dos genótipos discrepantes. P5: genitor feminino de PPA; P9 a P16: possíveis genitores masculinos de PPA; PPA1 a PPA45: genótipos segregantes da progênie PPA.

Apenas cinco dos possíveis parentais foram considerados nessa análise e evidencia que possivelmente grande parte dos genótipos da progênie são irmãos completos, diferente do esperado em fenômenos de polinização aberta, que seriam meios irmãos maternos. Apesar dos problemas dos cruzamentos correlacionados, a alta proporção de irmãos completos em progênie de meios irmãos pode fornecer uma vantagem aos programas de melhoramento de maracujazeiro, viabilizando explorar as vantagens de cruzamentos controlados, em progênie de polinização aberta. Uma dificuldade, nesse sentido é a identificação dos irmãos completos, e poderia ser solucionada a partir de testes de paternidade na progênie.

Em programas de melhoramento, a avaliação de progênie com alta diversidade genética, bem como, com a presença de alelos favoráveis é fundamental para a obtenção de maiores ganhos (BORÉM e MIRANDA, 2013; LOPES et al., 2015). Progênie de meios irmãos apresentam vantagens como fácil obtenção, menores custos, e é frequentemente usada para selecionar genótipos em programas de melhoramento de maracujazeiro azedo (OLIVEIRA et al., 2008; CHAGAS et al., 2016; FERREIRA et al., 2016). O agrupamento de PPA evidencia maior grau de similaridade dos indivíduos desta progênie, do que dos indivíduos das progênie híbridas.

No agrupamento das progênie híbridas, melhor distribuição da diversidade é observada, com os indivíduos mais distribuídos dentro dos grupos. A progênie PHA subdividiu-se em quatro grupos principais e diversos subgrupos (Figura 7). Observa-se que os genitores das progênie se agruparam em grupos opostos. A maior parte dos indivíduos agruparam próximos aos genitores, em que 11 indivíduos se agruparam no mesmo grupo de P1, e 12 indivíduos se agruparam no grupo de P2. Entre estes grupos formou-se dois grupos de seis e sete indivíduos, respectivamente, com genótipos que podem ser considerados de natureza híbrida. A segregação genética nesta progênie evidencia que os alelos nos genitores encontravam poucos fixados. Quando comparado a PPA, é possível observar menor porcentagem de genótipos com distância zero nesta progênie.

A variação genética dentro desta progênie permite praticar seleção, visando selecionar genótipos superiores. A maior distância foi observada entre os genótipos PHA5 e PHA23, PHA9 e PHA29, PHA23 e PHA25, e entre PHA23 e PHA32, de 0,57.

A menor distancia observada foi de 0, entre P1 e PHA36, PHA1 e PHA30, PHA5 e PHA32, PHA6 e PHA28, PHA13 e PHA18, PHA14 e PHA34, e PHA16 e PHA35. A média de distância dentro da progênie foi de 0,26, e, portanto cruzamentos entre indivíduos desta progênie exige considerável atenção, afim de evitar cruzar genótipos muito próximos.

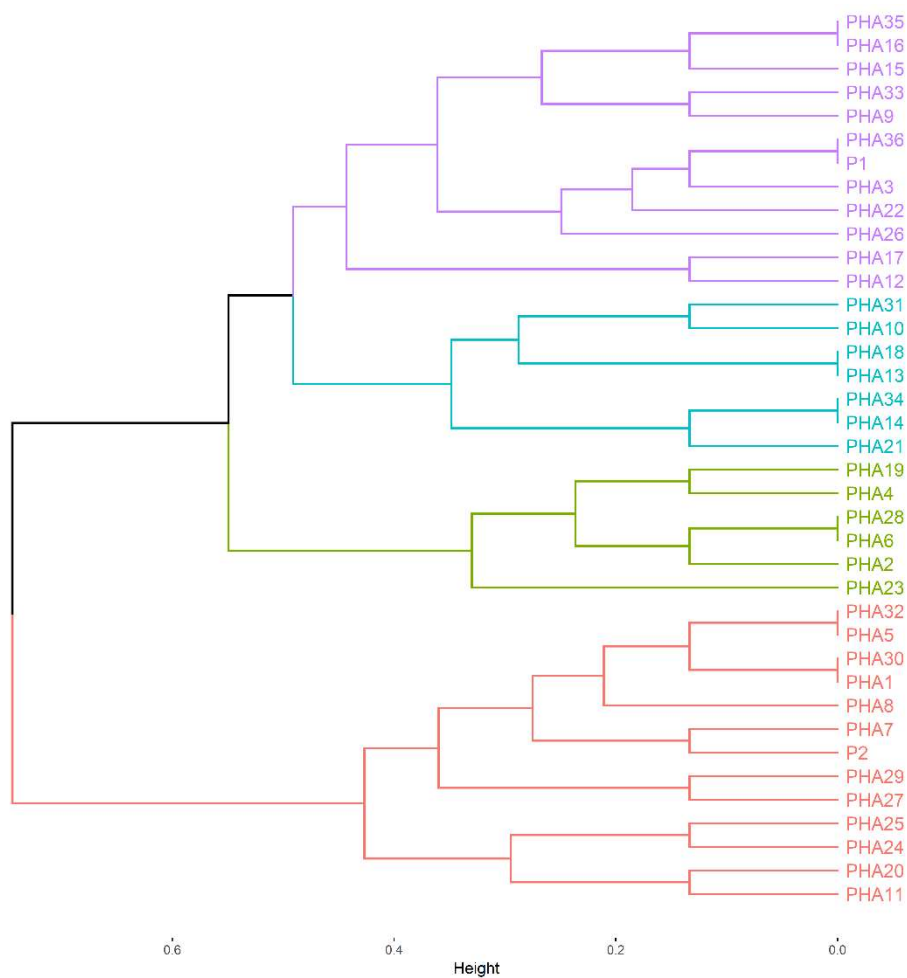


Figura 7. Agrupamento para os indivíduos da progênie PHA obtido a partir do complemento do índice de similaridade de Nei, a partir do método hierárquico da ligação média entre grupos (UPGMA), com números de grupos definidos a partir do método de Mojena (1977), com $k = 1,25$. Progênie PHA: PHA1 a PHA36; P1 e P2: Genitores femininos e masculinos da progênie PHA, respectivamente.

De maneira semelhante a PHA, a progênie PHB apresentou melhor distribuição dos genótipos dentro dos grupos. Aqui os genótipos se agruparam em cinco grupos, em que os genitores se agruparam em grupos distintos, como em PHA (Figura 8). O

P3 se agrupou em um grupo maior com 13 genótipos, enquanto P4 se agrupou em um grupo menor, juntamente com 9 genótipos. O genótipo PHB27 se agrupou isolado dos demais genótipos da progênie.

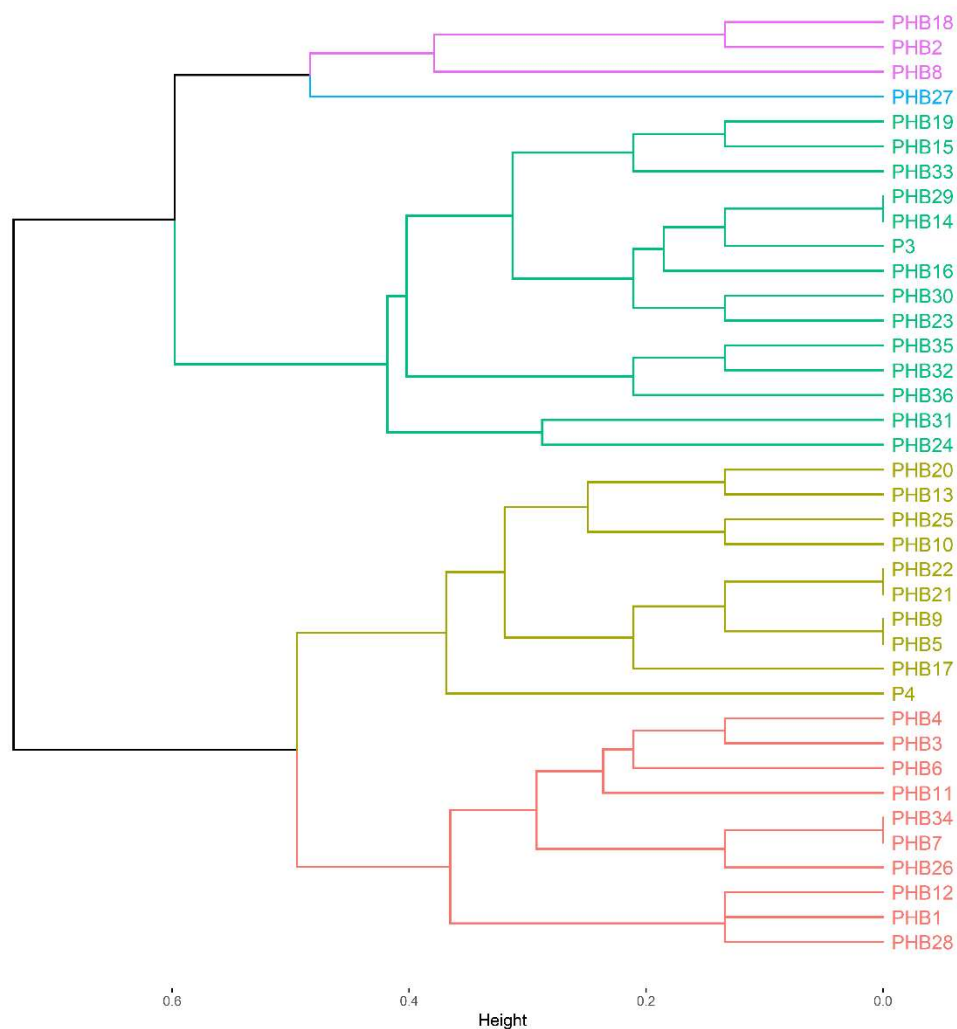


Figura 8. Agrupamento para os indivíduos da progênie PHB obtido a partir do complemento do índice de similaridade de Nei, a partir do método hierárquico da ligação média entre grupos (UPGMA), com números de grupos definidos a partir do método de Mojena (1977), com $k = 1,25$. Progênie PHB: PHB1 a PHB36; P3 e P4: Genitores femininos e masculinos da progênie PHB, respectivamente.

Distância igual a zero é observada, entre os genótipos PHB5 e PHB9, PHB14 e PHB29, PHB21 e PHB22, e entre PHB7 e PHB34. A maior distância observada foi de 0,57 entre PHB1 e PHB18. A média de distância entre os genótipos foi 0,26. Assim, tanto a média, e bem como a maior distância observada dentro da progênie PHB, foram

os mesmos valores observados em PHA. A diferença é que em PHA, a maior distância (0,57) foi observada entre 4 pares de genótipos, enquanto que em PHB esse valor foi observado apenas entre um par de genótipos. Apesar disso, a progênie PHB apresentou melhor padrão de diferenciação entre os indivíduos, com a formação de mais grupos, que PHA.

Maior divergência genética é observada nas progênies de irmãos completos, o que permite supor que maiores ganhos sejam conseguidos ao usar este tipo de progênie, apesar das limitações para sua obtenção. Por outro lado, ao considerar a base genética estreita das populações de maracujazeiro trabalhadas nos programas de melhoramento, a progênie de meios irmãos, obtida por meio de polinização aberta tende a manter a base genética das populações a serem avaliadas mais ampla, visto que esta apresenta maior diversidade alélica. Entretanto, baixa diversidade genética observada na progênie de meios irmãos pode levar a implicações na obtenção de ganhos genéticos. No melhoramento de maracujazeiro, a variabilidade genética em gerações segregantes é fundamental para a obtenção de cultivares com melhores características agronômicas (RODRIGUES et al., 2017).

Ao avaliar as duas progênies híbridas juntas (Figura 9), observa-se a formação de 12 grupos distintos. O agrupamento não segue um padrão de distinção entre as progênies, onde em praticamente todos os grupos possui indivíduos de ambas progênies. Isso se deve a relação de parentesco entre essas progênies, e está de acordo com os resultados observados na estruturação das progênies, em que PHA e PHB apresentaram estrutura genética semelhante.

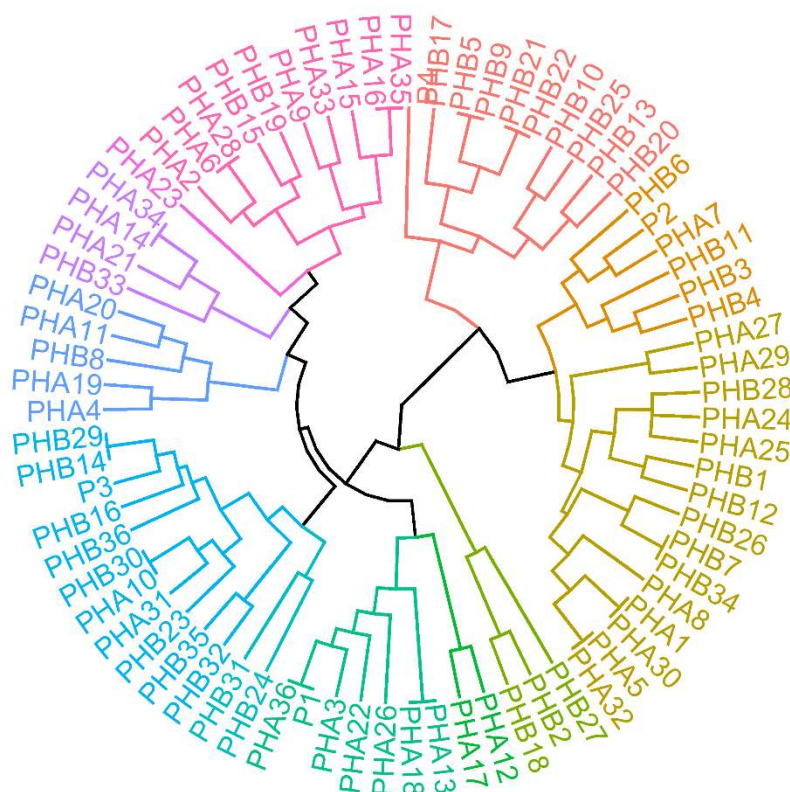


Figura 9. Agrupamento para os indivíduos das progênes PHA e PHB obtido a partir do complemento do índice de similaridade de Nei, a partir do método hierárquico da ligação média entre grupos (UPGMA), com números de grupos definidos a partir do método de Mojena (1977), com $k = 1,25$. Progênie PHA: PHA1 a PHA36; P1 e P2: Genitores femininos e masculinos da progênie PHA, respectivamente; Progênie PHB: PHB1 a PHB36; P3 e P4: Genitores femininos e masculinos da progênie PHB, respectivamente.

Ao agrupar todas as progênes juntas, também é possível visualizar a maior diversidade das progênes híbridas em relação a progênie PPA (Figura 10). Dos 15 grupos formados, os genótipos de PPA estiveram presentes em seis grupos, entretanto dos 43 genótipos desta progênie utilizados neste agrupamento, aproximadamente 70% se agruparam em apenas um grupo, juntamente com parentais P5, P9, P13 e P16. Outros seis genótipos se agruparam juntamente com seus possíveis pais P11 e P12. O genótipo PPA20 se agrupou juntamente com P14.

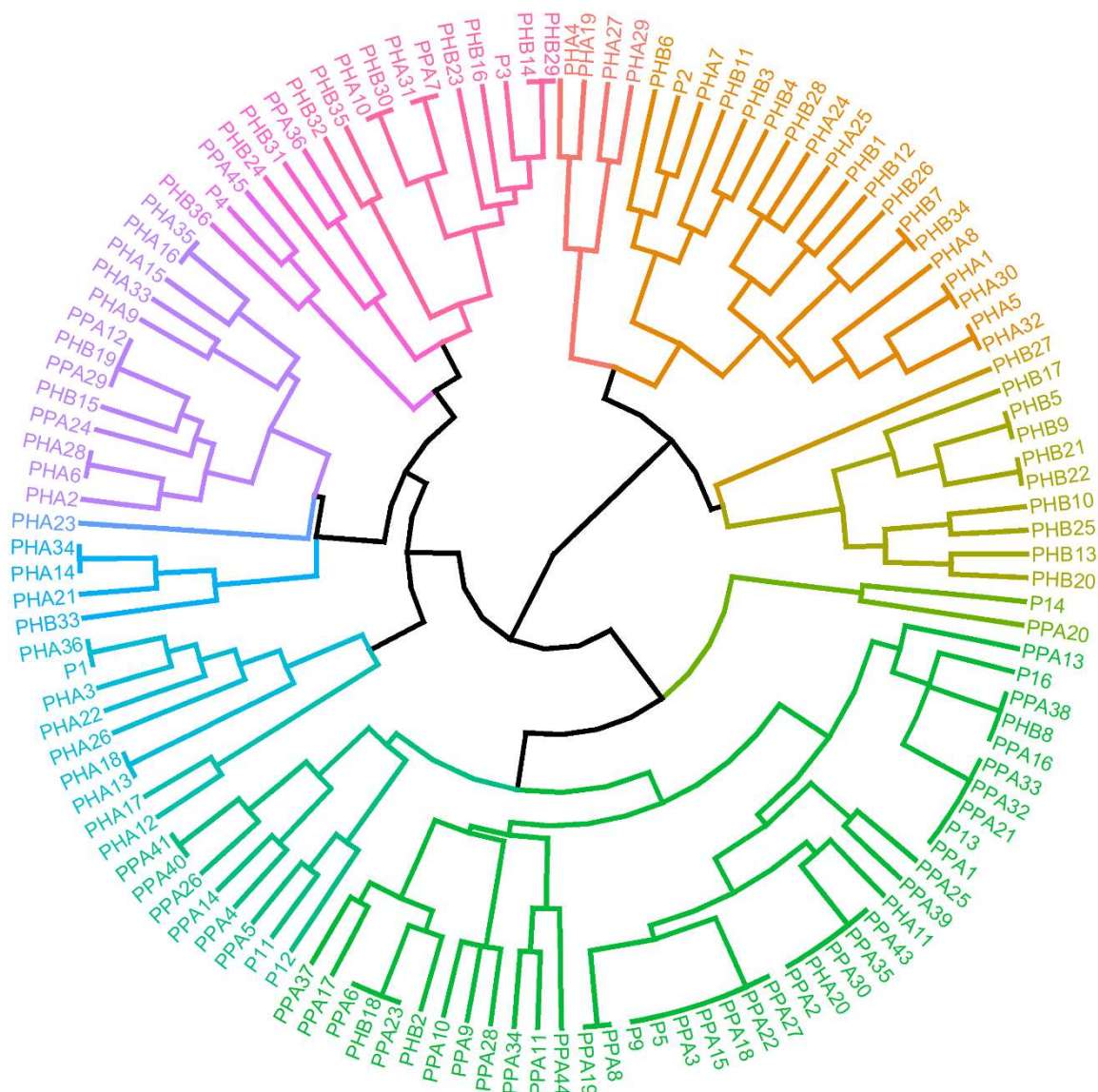


Figura 10. Análise de grupamento dos 133 indivíduos pertencente às três progênie em estudo, obtido a partir do complemento do índice de similaridade de Nei, a partir do método hierárquico da ligação média entre grupos (UPGMA), com números de grupos definidos a partir do método de Mojena (1977), com $k = 1,25$. Progênie PHA: PHA1 a PHA36; P1 e P2: Genitores femininos e masculinos da progênie PHA, respectivamente; Progênie PHB: PHB1 a PHB36; P3 e P4: Genitores femininos e masculinos da progênie PHB, respectivamente; PPA1 a PPA45: genótipos segregantes da progênie PPA; P5: genitor feminino de PPA; P9 a P16: possíveis genitores masculinos de PPA.

Não se observa um padrão de distribuição dos genótipos das progênie híbridas de acordo com a progênie a qual pertencem, como visualizado para a progênie PPA, em que praticamente todos os grupos são encontrados genótipos de ambas as progênie

(Figura 10). Um grupo isolado, constituído apenas de indivíduos PHA, e outro grupo constituído apenas de indivíduos PHB pode ser observado, e evidencia que os indivíduos destes grupos possuem um perfil genético mais restrito aos seus genitores.

A formação dos demais grupos, compostos de indivíduos de PHA e PHB, pode ser devido a relação de parentesco entre os genitores das progênes híbridas. Nos subgrupos, observa um padrão de diferenciação das progênes, onde alguns subgrupos contêm apenas indivíduos PHA e outros apenas com indivíduos PHB. A formação de subgrupos com genótipos de apenas PHA e outros, com apenas PHB evidencia que apesar da relação de parentesco entre as progênes, os indivíduos se caracterizam em relação as progênes a qual pertencem.

Dos 15 grupos, apenas dois, compostos exclusivamente por genótipos e parentais da progênie PPA, não possuem genótipos de PHA e/ou PHB. A não diferenciação entre as progênes híbridas era esperada, frente aos resultados encontrados na estruturação da população, onde as progênes híbridas se estruturam geneticamente em um mesmo grupo.

A distância média entre as progênes PHA e PHB foi 0,35, entre PHA e PPA foi de 0,64, e entre PHB e PPA foi 0,38. Visto que PHA possui relação de parentesco com PHB, e PHB possui relação de parentesco com a progênie PPA, justifica a maior proximidade entre essas progênes. No melhoramento, em que se busca o cruzamento entre genótipos divergentes, possivelmente nas progênes não aparentadas os genótipos serão mais divergentes, e nesse caso, cruzamentos entre as progênes PHA e PPA, podem gerar melhores resultados.

O resultado do agrupamento é importante por permitir identificar grupos de genótipos mais próximos e mais distantes, auxiliando na tomada de decisão quanto a cruzamentos a serem realizados. Além de permitir uma visão geral de distribuição dos genótipos em relação a outros, em uma população.

A seleção para caracteres quantitativos é feita baseando-se na média e variância genética da população, os quais permitem calcular parâmetros genéticos, por meio dos componentes de variância. A estimativa de variância genética aditiva permite ao melhorista estimar herdabilidades no processo seletivo, bem como adotar melhores estratégias de seleção. Assim, conhecer quão variável geneticamente é uma progênie em relação a outra, torna-se extremamente importante. De acordo com os resultados aqui obtidos, seleção dentro de progênes em progênes de irmãos completos, possivelmente fornecerá melhores estimativas de variância genética, uma vez que as

mesmas apresentaram maior diversidade e a proporção da variabilidade detectada dentro plantas em progênies de irmãos completos, corresponde a maior proporção de variância aditiva, do que a detectada em progênies de meios irmãos (KAGEYAMA e VENCOVSKY, 1983; MORI et al., 2013). Por outro lado, progênie de meios irmãos tende a se diferenciar geneticamente de outras progênies, e pode ser mais útil na seleção entre progênies, além disso tendem a possuir maior riqueza alélica, possibilitando manter a base genética da população mais ampla, e também são de mais fácil obtenção.

6. CONCLUSÕES

As progênies de meios irmãos e de irmãos completos tendem a distinguir entre si, entretanto o grau de distinção é influenciado pela relação de parentesco entre os genitores das progênies, devido a porcentagem de alelos comuns entre as progênies.

O tipo de família influencia na estrutura e na diversidade genética, em que progênies de irmãos completos possuem mais variabilidade genética do que as progênies de meios irmãos, possivelmente pela ocorrência de cruzamentos correlacionados na formação das progênies de meios-irmãos. Ambas as progênies possuem potencial de serem utilizadas no melhoramento, entretanto, atenção especial deve ser dada nas estratégias de seleção a ser adotada, para capitalização de maiores ganhos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, W. A. **Caracterização molecular de cultivares e progênies de maracujazeiro azedo**. 2018. 44f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Viçosa, MG.
- ARAYA, S.; MARTINS, A. M.; JUNQUEIRA, N. T. V.; COSTA, A. M.; FALEIRO, F. G.; FERREIRA, M. E. Microsatellite marker development by partial sequencing of the sour passion fruit genome (*Passiflora edulis* Sims). **BMC Genomics** v. 18, n. 1, p. 549, 2017.
- BELO, G. O.; SOUZA, M. M.; SILVA, G. S.; LAVINSCKY, M. P. Hybrids of *Passiflora*: *P. gardneri* versus *P. gibertii*, confirmation of paternity, morphological and cytogenetic characterization. **Euphytica**, v. 214, n. 1, p. 2, 2018.
- BERNACCI, L. C.; CERVI, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; NUNES, T. S.; IMIG, D. C.; MEZZONATO, A. C. 2015. Passiflorácea. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB182>>. Acesso em: 16 de julho de 2019.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 6ª ed. Viçosa: Editora UFV, 2013. 523 p.
- BORGES, K. F. **Diversidade de Passifloraceae no Espírito Santo**. 2016. 193f. Dissertação de (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES.
- BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLMICK, H.; DAVIS, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. **American Journal of Human Genetics**, v. 32, n. 3, p. 314-331, 1980.
- BRONDANI, R. P. V.; BRONDANI, C.; TARCHINI, R.; GRATTAPAGLIA, D. Development, characterization and mapping of microsatellite markers in *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 97, n. 5–6, p. 816–827, 1998.
- BRUCKNER, C. H.; CASALI, V. W. D.; MORAES, C. F.; REGAZZI, A. J.; SILVA, E. A. M. Self-incompatibility in passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). **Acta Horticulturae**, v. 370, n. 1, p. 45-57, 1995.
- BRUCKNER, C. H.; MELETTI, L. M. M.; OTONI, W. C.; ZERBINI JUNIOR, F. M. Maracujazeiro. In: BRUCKNER, C. H. **Melhoramento de fruteiras tropicais**. Viçosa: Editora UFV, 2002. p. 373-409.
- BRUCKNER, C. H.; OTONI, W. C. Hibridação em Maracujá. In: BORÉM, A. (Ed.). **Hibridação artificial de plantas**. 2.ed. Viçosa: Editora UFV, 2009. p. 445-468.

- BRUCKNER, C.H.; SUASSUNA, T. M. F.; RÊGO, M. M. do; NUNES, E. S. Autoincompatibilidade do maracujá – implicações no melhoramento genético. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (ed.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. p. 317-338.
- BUSCHIAZZO, E.; GEMMELL, N. J. Conservation of human microsatellites across 450 million years of evolution. **Genome Biology and Evolution**, v. 2, p. 153–165, 2010.
- CAIXETA, E. T.; FERRÃO, L. F. V.; MACIEL-ZAMBOLIM, E. Marcadores moleculares. In: BORÉM, A.; FRITSCHÉ-NETO, R. (Ed.). **Biotechnologia aplicada ao melhoramento de plantas**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2013. p. 9-30.
- CARVALHO, P. P.; ANTONIAZZI, C. A.; SILVA, N. T.; MIKOVSKI, A. I.; CARVALHO, I. F.; SILVA, M. L. In vitro regeneration of *Passiflora miniata* Mast. **Ornamental Horticulture**, v. 23, n. 1, p. 88-95, 2017.
- CASTRO, J. A.; OLIVEIRA, E. J.; JESUS, O. N.; SOARES, T. L.; MARGARIDO, G. R. A. Molecular markers for conservation genetic resources of four *Passiflora* species. **Scientia Horticulturae**. v. 212, p. 251–261, 2016.
- CAVALCANTE, N. R.; VIANA, A. P.; SANTOS, P. R. D.; PREISIGKE, S. D. C.; RIBEIRO, R. M.; TOFANELLI, E. J. Associations among production and physicochemical quality fruit traits in Passion fruit populations subjected to three cycles of intrapopulation recurrent selection. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 40, n. 5, 2018.
- CAVICHIOLO, J. C.; RUGGIERO, C.; VOLPE, C. A.; PAULO, E. M.; FAGUNDES, J. L.; KASAI, F. S. Florescimento e frutificação do maracujazeiro-amarelo submetido à iluminação artificial, irrigação e sombreamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 92-96, 2006.
- CERQUEIRA-SILVA, C. B.; SANTOS, E. S.; VIEIRA, J. G.; MORI, G. M.; JESUS, O. N.; CORRÊA, R. X.; SOUZA, A. P. New microsatellite markers for wild and commercial species of *Passiflora* (Passifloraceae) and cross-amplification. **Applications in plant sciences**, v. 2, n. 2, p. 1300061, 2014.
- CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; FALEIRO, F. G.; JESUS, O. N.; SANTOS, E. S. L.; SOUZA, A. P. Fruit (*Passiflora* spp.) Breeding. In: AL-KHAYRI, J. M.; JAIN, S. M.; JOHNSON, D. V. **Advances in Plant Breeding Strategies: Fruits**. Springer, Cham, 2018. p. 929-951.
- CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; JESUS, O. N.; OLIVEIRA, E. J.; SANTOS, E. S. L.; SOUZA, A. P. Characterization and selection of passion fruit (yellow and purple) accessions based on molecular markers and disease reactions for use in breeding programs. **Euphytica**, v. 202, p. 345–359, 2015.
- CHAGAS, K.; ALEXANDRE, R. S.; SCHMILDT, E. R.; BRUCKNER, C. H.; FALEIRO, F. G. Divergência genética em genótipos de maracujazeiro azedo, com

base em características físicas e químicas dos frutos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 3, p. 524-531, 2016.

CHEN, X.; TEMNYKH, S.; XU, Y.; CHO, Y. G.; MCCOUCH, S. R. Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 95, n. 4, p. 553–567, 1997.

CORDEIRO, M. H. M. **Paternidade e seleção de progênies de maracujazeiro azedo com baixa exigência em fotoperíodo e temperatura**. 2017. 74f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais – MG.

CORDEIRO, M. H. M.; ROSADO, R. D. S.; DE LUNA SOUTO, A. G.; CREMASCO, J. P. G.; DO SANTOS, C. E. M.; BRUCKNER, C. H. Estimates of Genetic Parameters and Selection Strategies in F1 Progenies Obtained from Endogamic Lines of Sour Passion Fruit. **Journal of Experimental Agriculture International**, p. 1-9, 2019a.

CORDEIRO, M. H. M.; ROSADO, R. D. S.; SOUTO, A. G. L.; CREMASCO, J. P. G.; DOS SANTOS, C. E. M.; Bruckner, C. H. Sour passion fruit hybrids with a low photoperiod and temperature requirement for genetic improvement in higher-latitude regions. **Scientia Horticulturae**, v. 249, p. 86-92, 2019b.

COSTA, A. F. S.; COSTA, A. N.; VENTURA, J. A.; FANTON, C. J.; LIMA, I. M.; CAETANO, L. C. S.; SANTANA, E. N. **Recomendações técnicas para o cultivo do maracujazeiro**. Vitória: Incaper, 2008. 56p.

COSTA, J. L.; JESUS, O. N. D.; OLIVEIRA, G. A. F.; OLIVEIRA, E. J. D. Effect of selection on genetic variability in yellow passion fruit. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 12, n. 4, p. 253-260, 2012.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: Editora UFV, 2003. v.2, 585 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2004. v.1, 480p.

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

DOYLE, J. L.; DOYLE, J. J. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12, p.13- 15.1990.

EARL, D. A.; VONHOLDT, B. M. Structure Harvester: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetics Resources**, v. 4, n. 2, p. 359-361, 2012.

ESCOBAR L. K. A new subgenus and five new species in *Passiflora* (Passifloraceae) from South America. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 76, n. 3, p. 877-855, 1989.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, n. 8, p. 2611-2620, 2005.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, v. 131, n. 2, p. 479-491, 1992.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. **Maracujá: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa Cerrados, 2016. 341 p.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.

FERREIRA, R. T.; VIANA, A. P.; SILVA, F. H. L.; SANTOS, E. A.; SANTOS, J. O. Intrapopulation recurrent selection in sour passion fruit by mixed models. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 1, p. 158-166, 2016.

FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J. M. A new infrageneric classification of *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Passiflora**, v. 13, n.2, p. 34-38, 2003.

_____. Passifloraceae. In: KUBITZKI, K. (eds). **The Families and Genera of Vascular Plants**. Berlin: Springer, 2007. v. 9, p. 270-281.

Flores, P. S.; Silva, D. F. P. da; Bruckner, C. H.; Oliveira, S. P. de; Salomão, L. C. C. Caracterização físico-química de frutos de maracujazeiro amarelo provenientes da irradiação com raios gama. **Ciência Rural**, v. 41, n. 11, p. 1903-1906, 2011.

FONSECA, K. G. D.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BARTH, M.; FELDBERG, N. P. Morphoagronomic and molecular characterization of ornamental passion fruit cultivars. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 10, p. 849-860, 2017.

FONSECA, K. G. D.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SILVA, M. S.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, K. P.; VAZ, C. D. F. Análise da recuperação do genitor recorrente em maracujazeiro-azedo por meio de marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 1, p. 155-153, 2009.

FREITAS, J. P. X.; OLIVEIRA, E. J.; CRUZ NETO, A. J.; SANTOS, L. R. Avaliação de recursos genéticos de maracujazeiro-amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 9, p. 1013-1020, 2011.

GADISSA, F.; TESFAYE, K.; DAGNE, K.; GELETA, M. Genetic diversity and population structure analyses of *Plectranthus edulis* (Vatke) agnew collections from diverse agro-ecologies in Ethiopia using newly developed EST-SSRs marker system. **BMC genetics**, v. 19, n. 1, p. 92, 2018.

GANGA, R. M. D.; RUGGIERO, C.; LEMOS, E. G. D. M.; GRILI, G. V. G.; GONÇALVES, M. M.; CHAGAS, E. A.; WICKERT, E. Genetic diversity in yellow

passion fruit utilizing fAFLP molecular markers. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 3, p. 494-498, 2004.

GIMENES, M. A.; HOSHINO, A. A.; BARBOSA, A. V.; PALMIERI, D. A.; LOPES, C. R. Characterization and transferability of microsatellite markers of the cultivated peanut (*Arachis hypogaea*). **BMC Plant Biology**, v. 7, n. 1, p. 9, 2007.

GIOPATO, H. A.; DA SILVA, M. B.; CARRARA, S.; PALERMO, B. R. Z.; DE MORAES, T. S.; DORNELAS, M. C. Genomic and transcriptomic approaches to understand *Passiflora* physiology and to contribute to passionfruit breeding. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 31, n. 1, p. 173-181, 2019.

GUPTA, P. K.; BALYAN, H. S.; SHARMA, P. C.; RAMESH, B. Microsatellites in plants: a new class of molecular markers. **Current Science**, v. 70, n. 1, p. 45-54, 1996.

HAFLE, O. M.; RAMOS, J. D.; ARAÚJO NETO, S. E. D.; MENDONÇA, V. Rentabilidade econômica do cultivo do maracujazeiro-amarelo sob diferentes podas de formação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, n. 32, p. 1082-1088, 2010.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. Ames: Iowa State University, 1988. 468 p.

HANSEN, A. K.; GILBERT, L. E.; SIMPSON, B. B.; DOWNIE, S. R.; CERVI, A. C.; JANSEN, R. K. Phylogenetic relationships and chromosome number evolution in *Passiflora*. **Systematic Botany**, v. 31, n. 1, p.138-150, 2006.

HOFFMANN, M.; PEREIRA, T. N. S.; MERCADANTE, M. B.; GOMES, A. R. Polinização de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (Passiflorales, Passifloraceae), por abelhas (Hymenoptera, Anthophoridae) em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro. **Iheringia**, Série zoologia, n. 89, p. 149-152, 2000.

Instituto Brasileiro de Pesquisas e Estatísticas – IBGE. **Produção agrícola municipal**. 2019. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457#resultado>>. Acesso em 10 de outubro de 2019.

JUNQUEIRA, N. T. V. J.; FALEIRO, F. G.; BRAGA, M. F.; JUNQUEIRA, K. P.; BORGES, R.; SILVA, D.; SANTOS, E. C.; SOUZA, L. **Desenvolvimento de híbridos ornamentais de maracujazeiro**. Embrapa Cerrados, 2007. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/572115/1/p200730.pdf>>. Acessado em: 17 de julho de 2019.

KAGEYAMA, P. Y.; VENCOVSKY, R. Variação genética em progênies de uma população de *Eucalyptus grandis* (Hill) Maiden. **IPEF**, n. 24, p. 9-26, 1983.

KAMVAR, Z. N.; TABIMA, J. F.; GRÜNWARD, N. J. Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. **PeerJ**, v. 2, n. 281, p. e281, 2014.

- KANAZIN, V; MAREK, L. F.; SHOEMAKER, R. C. Resistance gene analogs are conserved and clustered in soybean. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, n. 21, p. 11746-11750, 1996.
- KILLIP, E. P. **The american species of Passifloraceae**. Chicago: Publications of the Field Museum of Natural History, 1938. 613 p.
- KRAUSE, W.; SOUZA, R. S.; NEVES, L. G.; CARVALHO, M. L. S.; VIANA, A. P.; FALEIRO, F. G. Ganho de seleção no melhoramento genético intrapopulacional do maracujazeiro-amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 1, p. 51-57, 2012.
- LEITE, W. S.; PAVAN, B. E.; MATOS FILHO, C. H. A.; de ALCANTARA NETO, F.; de OLIVEIRA, C. B.; FEITOSA, F. S. Estimativas de parâmetros genéticos, correlações e índices de seleção para seis caracteres agrônômicos em linhagens F8 de soja. **Comunicata Scientiae**, v. 7, n. 3, p. 302-310, 2016.
- LIMA, A. A.; BORGES, A. L. Exigências edafoclimáticas. In: LIMA, A.A; CUNHA, M.A.P. 2004. **Produção e qualidade na passicultura**. 1ª ed. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 39-44.
- LIRA JÚNIOR, J. S. D.; FLORES, P. S.; BRUCKNER, C. H. UFV-M7: mutant yellow passionfruit genotype with photoperiod insensitivity for flowering. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 14, n. 2, p. 128-131, 2014.
- LIRA JÚNIOR, J. S. D.; BRUCKNER, C. H.; CARNEIRO, P. C. S. Method for overcoming the passion fruit self-incompatibility. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 4, 2016.
- LOPES, M. S.; EL-BASYONI, I.; BAENZIGER, P. S.; SINGH, S.; ROYO, C.; OZBEK, K.; AKTAS, H.; OZER, E.; OZDEMIR, F.; MANICKAVELU, A.; BAN, T.; VIKRAM, P. Exploiting genetic diversity from landraces in wheat breeding for adaptation to climate change. **Journal of experimental botany**, v. 66, n. 12, p. 3477-3486, 2015.
- LOSS, A. C. C.; LEITE, Y. L.; LOURO, I. D.; BATITUCCI, M. D. C. P. Diversidade genética de populações de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) no estado do Espírito Santo, Brasil. **Natureza on line**, v. 4, n. 2, p. 55-61, 2006.
- MACDOUGAL, J. M. Revision of *Passiflora*, subgenus *Decaloba* section *Pseudodysosmia* (Passifloraceae). **Systematic Botany Monographs**, v. 41, p. 1-146, 1994.
- MADSEN, L.H.; COLLINS, N.C.; RAKWALSKA, M.; BACKES, G.; SANDAL, N.; KRUSELL, L.; JENSEN, J.; WATERMAN, E.H.; JAHOR, A.; AYLIFFE, M.; PRYOR, A.J.; LANGRIDGE, P.; SCHULZE-LEFERT, P.; STOUGAARD, J. Barley disease resistance gene analogs of the NBS-LRR class: identification and mapping. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 269, p. 150-161, 2003.

- MALHOTRA, S. K. Horticultural crops and climate change: A review. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 87, n. 1, p. 12-22, 2017.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.
- MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; PASSOS, I. R. S. Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. In: FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V., BRAGA, M. F. (Eds.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. p. 55-78.
- MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, ed. especial, p. 83-91, 2011.
- MELETTI, L. M. M.; CAPANEMA, L. M. Programa de transferência de tecnologias do maracujá-amarelo do IAC. **O Agrônomo**, v. 64-66, n. 64, 2014. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/publicacoes/agronomico/pdf/OAgronomico-Edicao-64-66-Informacoes-tecnicas-Artigo-4.pdf>>. Acessado em: 21 de junho de 2019.
- MELO, C. A. F.; SOUZA, M. M.; VIANA, A. P.; SANTOS, E. A.; SOUZA, V. O.; CORRÊA, R. X. Morphological characterization and genetic parameter estimation in backcrossed progenies of *Passiflora* L. for ornamental use. **Scientia horticultrae**, v. 212, p. 91-103, 2016.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. Registro nacional de cultivares. Disponível em: <http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php?acao=pesquisar&postado=1>. Acesso em: 09 de setembro de 2019.
- MOJENA, R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: An evaluation. **The Computer Journal**, v. 20, n. 4, p. 359-363, 1977.
- MOREIRA, R. A.; CRUZ, M. D. C. M.; SANTOS, A. M.; FERNANDES, D. R.; OLIVEIRA, J. Rentabilidade do maracujazeiro-amarelo com redução do espaçamento de cultivo. **Revista Ciência Agrícola**, v. 17, n. 1, p. 23-30, 2019.
- MORI, E. S.; SEBBENN, A. M.; TAMBARUSSI, E. V.; GURIES, R. P. Sistema de reprodução em populações naturais de *Peltophorum dubium*. **Scientia Forestalis**, v. 41, n. 99, p. 307-317, 2013.
- MUSCHNER, V. C.; ZAMBERLAN, P. M.; BONATTO, S. L.; FREITAS, L. B. Phylogeny, biogeography and divergence times in *Passiflora* (Passifloraceae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, n. 4, p. 1036-1043, 2012.
- NASCIMENTO, W. M. O.; TOMÉ, A. T.; OLIVEIRA, M. do S. P. de; MULLER, C. H.; CARVALHO, J. E. U. Seleção de progênies de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) quanto à qualidade de frutos. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 25, n. 1, p. 186-188, 2003.

NEGREIROS, J. R. S.; JUNIOR, A. W.; ALVARES, V. S.; SILVA, J. O. C. E.; NUNES, E. S.; ALEXANDRE, R. S.; PIMENTEL, L. D.; BRUCKNER, C. H. Influência do estágio de maturação e do armazenamento pós-colheita na germinação e desenvolvimento inicial do maracujazeiro-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 21-24, 2006.

NEVES, L. G.; BRUCKNER, C. H.; CRUZ, C. D.; BARELLI, M. A. A. Avaliação da repetibilidade no melhoramento de famílias de maracujazeiro. **Ceres**, v. 57, n. 4, p. 480-485, 2015.

OCAMPO, J.; ACOSTA-BARÓN, N.; HERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, J. Variability and genetic structure of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener) in Colombia using microsatellite DNA markers. **Agromía Colombiana**, v. 35, n. 2, p. 135-149, 2017.

OLIVEIRA, E. D.; PÁDUA, J. G.; ZUCCHI, M. I.; CAMARGO, L. E. A.; FUNGARO, M. H. P.; VIEIRA, M. L. C. Development and characterization of microsatellite markers from the yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Molecular Ecology Notes**, v. 5, n. 2, p. 331-333, 2005.

OLIVEIRA, E. J. **Desenvolvimento e uso de marcadores microssatélites para construção e integração de mapas genéticos de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.)**. 2006. 152f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de plantas) - Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

OLIVEIRA, E. J.; DA SILVA SANTOS, V.; DE LIMA, D. S.; MACHADO, M. D.; LUCENA, R. S.; MOTTA, T. B. N.; SILVA CASTELLEN, M. Seleção em progênes de maracujazeiro-amarelo com base em índices multivariados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 11, p. 1543-1549, 2008.

OLIVEIRA, E. J.; VIEIRA, M. L. C.; GARCIA, A. A. F.; MUNHOZ, C. F.; MARGARIDO, G. R.; CONSOLI, L.; MATTA, F. P.; MORAES, M. C.; ZUCHI, M. I.; FUNGARO, M. H. P. An integrated molecular map of yellow passion fruit based on simultaneous maximum-likelihood estimation of linkage and linkage phases. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 133, n. 1, p. 35-41, 2008.

OLIVEIRA, G. A. F.; PÁDUA, J. G.; COSTA, J. L.; JESUS, O. N. D.; CARVALHO, F. M. D.; OLIVEIRA, E. J. D. Cross-species amplification of microsatellite loci developed for *Passiflora edulis* Sims. in related *Passiflora* Species. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, n. 5, p. 785-792, 2013.

ORTIZ, D. C.; BOHÓRQUEZ, A.; DUQUE, M. C.; TOHME, J.; CUÉLLAR, D.; VÁSQUEZ, T. M. Evaluating purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *edulis*) genetic variability in individuals from commercial plantations in Colombia. **Genetic resources and crop evolution**, v. 59, n. 6, p. 1089-1099, 2012.

PAN, Q.; LIU, Y. S.; BUDAI-HADRIAN, O.; SELA, M.; CARMEL-GOREN, L.; ZAMIR, D.; FLUHR, R. Comparative genetics of nucleotide binding site-leucine

rich repeat resistance gene homologues in the genomes of two dicotyledons: tomato and *Arabidopsis*. **Genetics**, v. 155, n. 1, p. 309-322, 2000.

PAULA, M. D. S.; FONSECA, M. D. N.; BOITEUX, L. S.; PEIXOTO, J. R. Caracterização genética de espécies de *Passiflora* por marcadores moleculares análogos a genes de resistência. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 1, p. 222-229, 2010.

PEREIRA, M. G.; PEREIRA, T. N. S.; VAINA, A. P. Marcadores moleculares aplicado ao melhoramento genético do maracujazeiro. In: FALEIRO, f. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Org.). **Maracujá: Germoplasma e melhoramento genético**. 1 ed. Brasília: EMBRAPA, v. 1, 2005. p. 275-292.

PEREIRA, P. P. A.; LIMA, L. K. S.; SOARES, T. L.; LARANJEIRA, F. F.; JESUS, O. N.; GIRARDI, E. A. Initial vegetative growth and survival analysis for the assessment of *Fusarium* wilt resistance in *Passiflora* spp. **Crop Protection**, v. 121, p. 195-203, 2019.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945-959, 2000.

REIS, R. V.; OLIVEIRA, E. J.; VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SILVA, M. G. M. Diversidade genética em seleção recorrente de maracujazeiro-amarelo detectada por marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 1, p. 51-57, 2011.

RODRIGUES, D. L.; VIANA, A. P.; VIEIRA, H. D.; SANTOS, E. A.; de LIMA, F. H.; SANTOS, C. L. Contribution of production and seed variables to the genetic divergence in passion fruit under different nutrient availabilities. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 8, p. 607-614, 2017.

RODRIGUES, L. K.; CHAVES, A. L. R.; DAMATTO, E. R.; EIRAS, M. Epidemiological aspects of the transmission and management of Cowpea Aphid-borne Mosaic Virus in a passion fruit orchard. **Journal of plant pathology**, v. 98, n. 3, p. 531-539, 2016.

SÁ, F.V.S.; BERTINO, A.M.P.; FERREIRA, N.M.; BERTINO, A.M.P.; SOARES, L.S.; MESQUITA, E.F. Formação de mudas de maracujazeiro amarelo com diferentes doses de esterco caprino e volumes do substrato. **Magistra**, v. 26, n. 4, p. 486-494, 2014.

SANTOS, C. E. M.; BRUCKNER, C. H.; CRUZ, C. D.; de SIQUEIRA, D. L.; PIMENTEL, L. D.; ROSADO, L. D. S. Repetibilidade em características do fruto do maracujazeiro. **Ceres**, v. 57, n. 3, p. 343-350, 2015.

SANTOS, L. F.; OLIVEIRA, E. J.; SANTOS SILVA, A.; CARVALHO, F. M.; COSTA, J. L.; PÁDUA, J. G. ISSR markers as a tool for the assessment of genetic diversity in *Passiflora*. **Biochemical Genetics**, v. 49, n. 7-8, p. 540-554, 2011.

- SHI, J.; HUANG, S.; FU, D.; YU, J.; WANG, X.; HUA, W.; LIU, S.; LIU, G.; WANG, H. Evolutionary dynamics of microsatellite distribution in Plants: insight from the comparison of sequenced brassica, arabidopsis and other angiosperm species. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, p. 1–16, 2013.
- SILVA, F. H. D. L.; VIANA, A. P.; SANTOS, E. A.; FREITAS, J. C. D. O.; RODRIGUES, D. L.; AMARAL JÚNIOR, A. T. D. Prediction of genetic gains by selection indexes and REML/BLUP methodology in a population of sour passion fruit under recurrent selection. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 39, n. 2, p. 183-190, 2017.
- SILVA, F. H.; MUÑOZ, P. R.; VINCENT, C. I.; VIANA, A. P. Generating relevant information for breeding *Passiflora edulis*: genetic parameters and population structure. **Euphytica**, v. 208, n. 3, p. 609-619, 2016.
- SILVA, M. A. A.; SOUZA, M. M.; SILVA, G. S.; MELO, C. A. F.; CORRÊA, R. X.; ARAÚJO, I. S.; CONCEIÇÃO, L. D. Analysis of transferability of microsatellite primers (SSR) in wild *Passiflora* species and intraspecific genetic diversity in *Passiflora alata*. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n.3, p. 5908-5918, 2014.
- SILVA, M. G. M.; VIANA, A. P.; GONÇALVES, G. M.; DO AMARAL JÚNIOR, A. T.; PEREIRA, M. G. Seleção recorrente intrapopulacional no maracujazeiro amarelo: alternativa de capitalização de ganhos genéticos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 1, p. 170-176, 2009.
- SIQUEIRA K. M. M.; KIILL, L. H. P.; MARTINS, C. F.; LEMOS, I. B.; MONTEIRO, S. P.; FEITOZA, E. A. Ecologia da polinização do maracujá-amarelo, na região do vale do submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 1, p. 1-12, 2009.
- SOUZA, V. O.; SOUZA, M. M.; ALMEIDA, A. A. F.; BARROSO, J. P.; VIANA, A. P.; MELO, C. A. F. Pre-breeding in *Passiflora subrotunda* Mast.: Morphological and Reproductive Characterization at Different Light Levels. **HortScience**, v. 53, n. 7, p. 949-957, 2018.
- TIAN-MING, H.; XUE-SEM, C.; ZHENG, X.; JIANG-SHENG, G.; PEI-JUN, L.; WEN, L.; QING, L.; YAN, W. Using SSR markers to determine the population genetic structure of wild apricot (*Prunus armeniaca* L.) in the Ily Valley of West China. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 54, n. 3, p. 563-572, 2007.
- TULER, A. C.; CARRIJO, T. T.; NÓIA, L. R.; FERREIRA, A.; PEIXOTO, A. L.; FERREIRA, M. F. S. SSR markers: a tool for species identification in *Psidium* (Myrtaceae). **Molecular Biology Reports**, v. 42, n. 11, p. 1501-1513, 2015.
- ULMER, T.; MACDOUGAL, J. M. *Passiflora*: Passionflowers of the world. Portland: Timber Press, 2004. 430 p.
- VALLS, J. F.M. Caracterização de recursos genéticos vegetais. In: NASS, L.L. (Ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília: Embrapa. 2007. p. 281-305.

- VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SOUZA, M. D.; MALDONADO, J. F. M.; AMARAL JÚNIOR, A. D. Diversidade genética entre genótipos comerciais de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de passifloras nativas determinada por marcadores RAPD. **Revista Brasileira de fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 489-493, 2003.
- VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; LEE, T. V. D.; HORNES, M.; FRITERS, A.; POT, J.; PALMAN, J.; KUIPER.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic acids research**, v. 23, n. 21, p. 4407-4414, 1995.
- WAGENIUS, S.; HANGELBROEK, H. H.; RIDLEY, C. E.; SHAW, R. G. Biparental inbreeding and interremnant mating in a perennial prairie plant: fitness consequences for progeny in their first eight years. **Evolution: International Journal of Organic Evolution**, v. 64, n. 3, p. 761-771, 2010.
- WELSH, J.; MCCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic acids research**, v. 18, n. 24, p. 7213-7218, 1990.
- YOCKTENG, R.; NADOT, S. Phylogenetic relationships among *Passiflora* species based on the glutamine synthetase nuclear gene expressed in chloroplast (ncpGS). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 31, n. 1, p. 379-396, 2004.
- YU, G.; SMITH, D.; ZHU, H.; GUAN, Y.; LAM, T. T. Ggtree: an R package for visualization and annotation of phylogenetic trees with their covariates and other associated data. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 8, p. 28-36, 2017.
- ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics**, v. 20, n. 2, p. 176-183, 1994.