

DANIELA DA HORA FARIAS

**CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA E RESPOSTA AO
Cowpea aphid-borne mosaic virus EM ACESSOS E HÍBRIDOS RC1 DE
MARACUJAZEIRO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de
Doctor Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2016

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

T

F224c Farias, Daniela da Hora, 1985-

2016 Caracterização da diversidade genética e resposta ao
Cowpea aphid-borne mosaic virus em acessos e híbridos RC1 de
maracujazeiro / Daniela da Hora Farias. – Viçosa, MG, 2016.
x, 155f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Cláudio Horst Bruckner.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Maracujá - Melhoramento genético. 2. *Passiflora*.
3. Germoplasma vegetal. 4. Diversidade genética. 5. Maracujá -
Resistência a doenças e praga. 6. Viroses de planta.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia.
Programa de Pós-graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 634.425

DANIELA DA HORA FARIAS

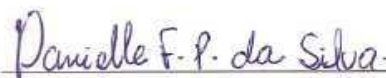
**CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA E RESPOSTA AO
Cowpea aphid-borne mosaic virus EM ACESSOS E HÍBRIDOS RC1 DE
MARACUJAZEIRO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de
Doctor Scientiae.

APROVADA: 23 de fevereiro de 2016.



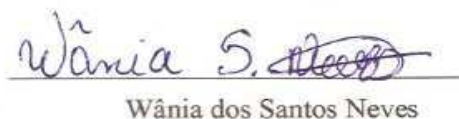
Carlos Eduardo Magalhães dos Santos



Danielle Fabiola Pereira da Silva



Onildo Nunes de Jesus
(Coorientador)



Wânia dos Santos Neves



Claudio Horst Bruckner
(Orientador)

*"Feliz o homem que acha sabedoria,
e o homem que adquire conhecimento"
(Provérbios 3:13)*

AGRADECIMENTOS

A DEUS pelas oportunidades, sabedoria, força e coragem para enfrentar os desafios e vencer!

Aos meus pais, João e Célia, pelo amor incondicional e por todos os sacrifícios que enfrentaram para investir em meus estudos. Ao meu irmão e cunhada, Danilo e Assuana, pelo apoio e carinho. Aos demais familiares, que sempre me acompanharam em cada fase da vida.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade do Doutorado.

À Embrapa Mandioca e Fruticultura, pelo apoio institucional e por permitir a realização do trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb), pelo apoio financeiro ao Projeto em Rede Passiflora.

Ao Professor Claudio Horst Bruckner pela orientação, atenção, apoio de toda ordem e, principalmente, confiança.

Ao coorientador Pesquisador Onildo Nunes de Jesus, que é uma bênção de Deus. Amigo, sempre paciente, prestativo, extremamente atencioso e um excelente profissional. Obrigada pela confiança, incentivo e amizade.

Ao coorientador Professor Quelmo Novaes pela orientação dada e exemplo de professor, profissional, mas principalmente um grande exemplo de ser humano.

Aos Professores Carlos Ledo e Cosme Damião pela ajuda nas análises estatísticas.

Aos demais professores da Universidade Federal de Viçosa que transmitiram seus conhecimentos e experiências nas disciplinas cursadas.

Aos demais pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura pelas sugestões pertinentes para o desenvolvimento deste trabalho.

À Thamyra Plácido pela amizade e ajuda inestimável durante todas as avaliações de campo e laboratório.

À Sidnara Sampaio pelo apoio exemplar no desenvolvimento de todas as atividades experimentais.

Aos colegas Alirio, Pedro, Idália, Fernanda, Kelly, Lucas, Tiago, Zanon, Plácido, Taliane, Taylane, Tailán, Danilo, Andréia Tumelero e Adriana Fiuza pelo auxílio nas diversas atividades de campo, nas casas de vegetação e laboratório de análise de frutas e molecular.

Aos técnicos Vandeson e Raimundo; a analista Andresa e demais estagiários do Laboratório de Biologia Molecular, pelos ensinamentos e ajuda fundamental nas análises moleculares.

Aos funcionários da Equipe Maracujá, pelo auxílio nas atividades de campo.

Aos amigos do curso de Pós-Graduação, Ana Carla, Néia, Marcos, Alejandro e Thaís Pessoa pela agradável convivência, apoio, incentivo e amizade.

Aos membros da banca, pela disponibilidade e contribuições.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram de alguma forma para realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos!

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS	10

CAPÍTULO I

VARIABILIDADE GENÉTICA E REAÇÃO DE ACESSOS DE MARACUJAZEIRO

AO *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV)

RESUMO	19
ABSTRACT	21
1. INTRODUÇÃO	23
2. MATERIAL E MÉTODOS	24
2.1 Local de condução e genótipos avaliados	24
2.2 Identificação viral	26
2.3 Avaliação da severidade da virose em espécies de <i>Passiflora</i>	27
2.4 Caracterização morfológica de genótipos de <i>Passiflora</i>	28
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
3.1 Confirmação do CABMV	33
3.2 Avaliação da severidade de virose em espécies de <i>Passiflora</i>	33
3.3 Caracterização por descritores morfológicos de genótipos de <i>Passiflora</i>	37
3.4 Caracterização por descritores qualitativos de genótipos de <i>Passiflora</i>	39
3.5 Matriz Geral dos descritores	45
3.6 Análise discriminante de genótipos de <i>Passiflora</i>	47
4. CONCLUSÕES	50
5. REFERÊNCIAS	51

CAPÍTULO II

AValiação FÍSICA E QUÍMICA DE FRUTOS NA ESTIMATIVA DA

DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE *Passiflora* spp.

RESUMO	59
ABSTRACT	61
1. INTRODUÇÃO	63
2. MATERIAL E MÉTODOS	64
2.1 Local de condução e genótipos avaliados	64
2.2 Caracterização físicas e químicas de frutos de <i>Passiflora</i>	67
2.3 Análises estatísticas	70
2.3.1 Análises multivariadas dos acessos	70
2.3.2 Correlações fenotípicas entre os caracteres avaliados	70
2.3.3 Análise de repetibilidade	71
2.3.4 Programas estatísticos	73
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
4. CONCLUSÕES	96
5. REFERÊNCIAS	97

CAPÍTULO III

AValiação MORFOLÓGICA E RESPOSTA À INFECÇÃO POR *Cowpea aphid-borne mosaic virus* DE PROGÊNIES RC1 DE MARACUJAZEIRO

RESUMO	104
ABSTRACT	106

1. INTRODUÇÃO	108
2. MATERIAL E MÉTODOS	109
2.1 Local de condução e progênies avaliadas.....	109
2.2 Avaliação da severidade da virose em progênies RC1.....	109
2.3 Avaliação da resistência ao CABMV por ELISA	110
2.4 Caracterização morfológica de híbridos interespecíficos.....	111
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	113
4. CONCLUSÕES	123
5. REFERÊNCIAS.....	124
CAPÍTULO IV	
SELEÇÃO DE PROGÊNIES RC1 DE MARACUJAZEIRO COM BASE EM	
MARCADORES iPBS.....	127
RESUMO	127
ABSTRACT.....	128
1. INTRODUÇÃO	129
2. MATERIAL E MÉTODOS	130
2.1 Material vegetal	130
2.2 Extração de DNA genômico foliar	132
2.3 Quantificação do DNA	133
2.4 Reação de amplificação do iPBS (<i>Inter-Primer Binding Site</i>).....	133
2.5 Avaliação da severidade da virose em progênies RC1.....	134
2.6 Análise dos dados	135
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	135
4. CONCLUSÕES	147
5. REFERÊNCIAS.....	148
CONCLUSÕES GERAIS	154

RESUMO

FARIAS, Daniela da Hora, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2016. **Caracterização da diversidade genética e resposta ao *Cowpea aphid-borne mosaic virus* em acessos e híbridos RC1 de maracujazeiro.** Orientador: Claudio Horst Bruckner. Coorientadores: Onildo Nunes de Jesus e Quelmo Silva de Novaes.

O Brasil é apontado como o mais importante centro de diversidade do maracujá e maior produtor mundial da fruta. Entretanto, a ocorrência de virose do endurecimento do fruto e a falta de variedades melhoradas, mais produtivas e com resistência às principais doenças limitam a qualidade e o potencial da cultura. A exploração da variabilidade genética dentro do gênero *Passiflora* constitui uma atividade importante no melhoramento para identificação de fontes de resistência às principais doenças do maracujazeiro e obtenção de novas variedades com atributos desejáveis. O primeiro capítulo teve como objetivo avaliar a reação de acessos do Banco de Germoplasma de *Passiflora* spp., ao CABMV e verificar a variabilidade genética disponível por meio de descritores morfológicos. Os resultados permitiram indicação e seleção de indivíduos com resistência/tolerância genética ao CABMV com destaque para os acessos BGP188 (*P. edulis* f. *flavicarpa*) e BGP 170 (*P. malacophylla*). Os agrupamentos indicaram grupos com potencial a serem utilizados em programas de melhoramento genético. Os descritores possibilitaram um melhor ordenamento das espécies *P. edulis* f. *flavicarpa* e nas demais espécies silvestres. O segundo capítulo teve como objetivo estimar a diversidade genética entre os acessos de maracujazeiro por meio de características físicas e químicas de frutos e indicar combinações para futuros trabalhos de melhoramento genético em *Passiflora*. As variáveis massa de casca, massa do fruto, diâmetro e comprimento de fruto contribuíram para a máxima variabilidade observada nos acessos de *Passiflora*. Para essas características cinco frutos são suficientes para prever o valor real dos indivíduos com 90% de acurácia. Os caracteres rendimento de suco e acidez titulável apresentam baixa repetibilidade, indicando cautela na seleção de genótipos com base nessas características. O agrupamento UPGMA indicou a existência de variabilidade genética entre os acessos avaliados, apresentando grupos com acessos mais dissimilares com potencial a serem utilizados em futuras etapas de seleção e cruzamentos de genótipos. O terceiro capítulo teve como objetivo caracterizar morfológicamente e avaliar progênies da primeira geração de retrocruzamento para resistência ao CABMV. A incidência de virose avaliada nas progênies híbridas indicou que as progênies das séries RC1-H44 e RC1-H57, foram mais similares ao *P.*

cincinnata, mais tolerantes ao CABMV e apresentaram baixos valores de absorvência. O híbrido RC1-H57-83 se destacou por apresentar menor índice de severidade do CABMV (15,6%), podendo ser utilizado como genitor feminino na geração RC2. A caracterização morfológica nas progênes híbridas possibilitou a identificação de indivíduos com características mais similares aos parentais e com diferentes graus de tolerância ao CABMV. O quarto capítulo teve como objetivo avaliar a recuperação do genoma recorrente em híbridos da primeira geração de retrocruzamento de *Passiflora* por meio de marcadores moleculares iPBS e selecionar genitores mais tolerantes ao CABMV. Os marcadores iPBS foram capazes de distinguir progênes RC1 de seus parentais e quantificou a recuperação do genoma recorrente. As progênes RC1-H57-89 e RC1-H49-77 com maior percentagem do genoma do genitor recorrente apresentam também maior severidade de virose. As progênes RC1-H57-85 e RC1-H57-91 por serem mais tolerantes ao CABMV são promissoras ao próximo ciclo de retrocruzamento. A análise de agrupamento revelou variabilidade genética entre as progênes RC1, o que demonstra potencial para serem utilizadas nas gerações seguintes de retrocruzamento.

ABSTRACT

FARIAS, Daniela da Hora, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2016. **Characterization of genetic diversity and response to Cowpea aphid-borne mosaic virus in access and RC1 hybrid of passion fruit.** Adviser: Claudio Horst Bruckner. Co-Advisers: Onildo Nunes de Jesus and Quelmo Silva de Novaes.

Brazil is named as the most important passion diversity center and largest producer in the world of fruit. However, the occurrence of the virtual hardening of the fruit and the lack of improved varieties, more productive and resistance to major diseases limit the quality and potential of culture. The exploitation of genetic variability within the genus *Passiflora* is an important activity in improving to identify sources of resistance to major diseases of passion fruit and obtain new varieties with desirable attributes. The first study aimed to evaluate the reaction of hits the Germplasm Bank of *Passiflora* spp., to CABMV and verify the genetic variability available through morphological descriptors. The results allowed the nomination and selection of individuals with resistance / tolerance to genetic CABMV highlighting the BGP188 access (*P. edulis* f. *flavicarpa*) and BGP 170 (*P. malacophylla*). The groups indicated groups with potential to be used in breeding programs. The descriptors enabled better planning of species *P. edulis* f. *flavicarpa* and in other wild species. The second study was in order to estimate the genetic diversity among passion fruit accesses through physical-chemical characteristics of fruits and point combinations for future work on genetic improvement in *Passiflora*. The mass variables bark, fruit weight, fruit diameter and length contributed to the maximum variability observed in *Passiflora* hits. For these five fruit characteristics are sufficient to predict the actual value of individuals with 90% accuracy. The characters juice yield and acidity have low repeatability, indicating caution in the selection of genotypes based on these characteristics. The UPGMA indicated the existence of genetic variability among accessions, with groups with more dissimilar access with potential to be used in future stages of selection and genotypes crossings. The third study aimed to characterize morphologically and evaluate progeny of the first generation of backcrossing to resistance CABMV. The incidence of virus assessed in hybrid progenies indicated that the progenies of RC-H44 and RC1-H57 series, were more similar to *P. cincinnata*, more tolerant CABMV and had low absorbance values. The hybrid RC1-H57-83 stood out with less CABMV severity index (15,6%) and can be used as female parent in RC2 generation. Morphological characterization in hybrid progeny, allowed the identification of individuals with the

most similar characteristics to parental and with different degrees of tolerance CABMV. The fourth study was to evaluate the recovery of recurrent genome in hybrids of the first generation of backcrossing *Passiflora* through molecular markers IPBS and select more tolerant parents to CABMV. The IPBS markers were able to distinguish RC1 offspring of their parents and quantified the recovery of recurrent genome. The RC1- H57-89 and RC1-H49-77 progenies with the highest percentage of recurrent parent genome also have greater severity of virus. The RC1-H57-85 and RC1-H57-91 progenies to be more tolerant CABMV are promising the next backcross cycle. Cluster analysis revealed genetic variation among progenies RC1, which demonstrates the potential to be used in the following generations of backcrossing.

INTRODUÇÃO GERAL

O maracujazeiro é originário da América Tropical e pertence à ordem Passiflorales, tribo Passiflorae e família Passifloraceae (CUNHA et al., 2004). A família Passifloraceae possui 18 gêneros perfazendo em torno de 630 espécies, sendo o gênero *Passiflora* o de maior interesse comercial com mais de 500 espécies (VANDERPLANK, 1991; BERNACCI et al., 2005).

O gênero *Passiflora* possui espécies que apresentam potencial ornamental, uso na indústria farmacêutica e cosméticos (PEIXOTO, 2005). Na produção frutícola brasileira, cultivos comerciais da espécie *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. conhecida por maracujazeiro azedo ou amarelo é o mais cultivado com a crescente evolução da área de plantio para atender o setor industrial de beneficiamento de suco e mercado in natura da fruta (MATTA, 2005). De acordo com Vanderplank (1991) e Junqueira et al. (2005) o *Passiflora edulis* f. *edulis* apresenta fruto roxo e *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* apresenta fruto geralmente amarelo e são variações existentes de *Passiflora edulis*.

O maracujazeiro amarelo é classificado botanicamente como planta perene, com ciclo de 3 a 6 anos; trepadeira semilenhosa; caule cilíndrico; planta vigorosa de crescimento rápido e contínuo com frutificação precoce. Possui sistema radicular pivotante, pouco profundo e maior volume de raízes concentrado em torno de 40 cm de profundidade, em um raio de 50 cm a partir do tronco. Os ramos são vigorosos, semiflexíveis, trepadores, lenhosos e com teores de lignina reduzido à medida que se aproxima do ápice da planta. As folhas são simples e alternadas, de cor verde-clara a vermelho-purpúrea, possuindo na fase juvenil forma ovalada e trilobada na fase adulta. As flores são hermafroditas, apresentam autoincompatibilidade com presença de loco gametofítico em associação ao sistema esporofítico, cinco sépalas, cinco pétalas de coloração branca, amarelada, azulada ou purpúrea e filamentos formando a corona. O fruto é em forma de baga que varia de oval a globosa dependendo da espécie, a parte externa é formada pelo pericarpo e a interna pela polpa mucilagínosa e sementes providas de arilos (MANICA, 1997; SUASSUNA et al. 2003; CUNHA et al., 2004; BRUCKNER et al., 2005).

A passicultura possui grande importância econômica e social, devido aos pequenos agricultores encontrarem nesta atividade geração de renda e sustentação de sua família. Em consequência disso, o Brasil nos últimos anos vem expandindo as áreas cultivadas comercialmente. Apesar de a cultura requerer um investimento inicial

elevado, o agricultor familiar encontrou no maracujá uma atividade economicamente viável (MELETTI, 2011). Atualmente, o Brasil vem obtendo destaque de principal produtor mundial de maracujá, com aproximadamente 56.825 ha de área colhida e produção de 823.284 toneladas. A Região Nordeste tem liderado a produção brasileira com 583.636 toneladas, com destaque para os estados da Bahia (65,31%) e Ceará (24,67%) seguido do Espírito Santo (12,05%) que juntos respondem por mais da metade da produção nacional (IBGE, 2014).

A autoincompatibilidade presente no gênero *Passiflora* é uma característica importante da biologia floral, pois determina a alogamia e contribui para o aumento da variabilidade genética, uma vez que as espécies de passiflora são plantas de polinização cruzada (BRUCKNER et al., 2005; SUASSUNA et al., 2003). O maracujazeiro pode ser propagado sexuadamente, por sementes, ou assexuadamente por meio de cultura de tecidos *in vitro*, enxertia ou estaquia (SÃO JOSÉ et al., 1994). Na propagação sexuada, da maneira como é realizada atualmente, ocorre a polinização cruzada com desenvolvimento de indivíduos com grande variabilidade genética e formação de mudas desuniformes e heterogêneas. A propagação assexuada permite a formação de mudas mais uniformes, selecionando e multiplicando plantas com alta produtividade (SOUSA; MELETTI, 1997). Entretanto, a propagação por sementes se destaca devido à facilidade e ao menor tempo de formação das mudas (FERREIRA, 2000).

A polinização é cruzada realizada, principalmente por abelhas mamangavas (*Xylocopa* spp.), que são mais eficientes, pois os insetos menores apenas coletam o néctar sem polinizar o estigma devido ao tamanho alongado do androginóforo. Além disso, a polinização manual também é utilizada de forma complementar à polinização cruzada (MELETTI, 2003).

O maracujazeiro se desenvolve bem em temperatura média de 25°C, dias longos com 11 horas de luminosidade por dia, exigência hídrica entre 800 a 1500 mm por ano, altitude entre 100 a 1000 metros acima do nível do mar e baixa tolerância a ventos fortes (CUNHA et al., 2004). Segundo os mesmos autores, condições adversas às citadas anteriormente como temperaturas baixas, pouca disponibilidade de água e luminosidade inadequada podem retardar o crescimento e reduzir a absorção de nutrientes pela planta, induzir à paralisação das atividades vegetativas e reduzir a formação de flores e frutos, respectivamente. Além disso, os solos mais indicados para a cultura são os argilo-arenosos, profundos e bem drenados, pois a umidade nas raízes favorece o ataque de patógenos causadores de podridões (MANICA, 1981).

Com a expansão de plantios comerciais da passicultura no Brasil, devido à crescente demanda pela fruta, tem-se observado o aumento dos problemas fitossanitários e consequentemente a redução significativa da produtividade e o período de exploração econômica da cultura (MARTINS et al., 2006). No Brasil, os problemas fitossanitários no maracujazeiro são os principais responsáveis pela diminuição das áreas de plantio e da produtividade (JUNQUEIRA et. al., 2005). Os fitopatógenos são os principais agentes responsáveis pelo não desenvolvimento da cultura (SOUSA, 2005). Assim, diversos pomares brasileiros são atacados pela antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*), verrugose ou cladosporiose (*Cladosporium* sp.), septoriose (*Septoria passiflora*), murcha de fusário (*Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*), bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*) e a virose do endurecimento dos frutos (*Cowpea aphid-borne mosaic virus* - CABMV) que são os principais problemas fitossanitários que afetam a passicultura, reduzindo a vida útil do pomar, causando perdas na produção e qualidade dos frutos (MELETTI, 2011).

O vírus do endurecimento dos frutos pertence ao gênero *Potyvirus* e família *Potyviridae* (TAYLOR; GREBER, 1973), é a virose mais importante da cultura do maracujazeiro, sendo descrita pela primeira vez na Austrália (MCKNIGHT, 1953), em seguida no continente americano e africano (CHAGAS et al., 1981). No território brasileiro foi descrito pela primeira vez, na década de 1970, como isolado de *Passion fruit woodiness virus* (PWV), no estado da Bahia, e posteriormente por várias regiões do país resultando em quedas de produção nos cultivos de maracujazeiro (YAMASHIRO; CHAGAS, 1979). Até a década de 1990, estudos relataram que a virose existente na África do Sul era causada por uma estirpe do PWV através da morfologia das partículas, sintomatologia, hospedeiros alternativos e características sorológicas (CHAGAS et al., 1981; CHAGAS et al., 1992; BEZERRA et al., 1995; INOUE et al., 1995; TRINDADE et al., 1999). Entretanto, com a implementação da técnica molecular, como o sequenciamento de parte do genoma referente à capa proteica e análises filogenéticas, os isolados brasileiros foram identificados como pertencentes à espécie *Cowpea aphid borne mosaic virus* (CABMV) (NASCIMENTO et al., 2004; NASCIMENTO et al., 2006; BARROS et al., 2011; SILVA, 2012).

O maracujazeiro uma vez infectado pelo CABMV apresenta mosaico comum, enrugamento, bolhosidade, distorção e redução na área foliar comprometendo a produção, pois os frutos ficam menores, deformados e com endurecimento do pericarpo (Figura 1) (REZENDE, 2006).



Figura 1. Sintomatologia em folha e fruto de maracujazeiro azedo causado pelo CABMV. Bolhosidade, distorção e redução na área foliar (A) e fruto deformado (B). Fotos: Farias, D. da H.

O CABMV pode ser transmitido por afídeos vetores da família Aphididae: *Aphis gossypii* e *Mysus perssicae*, por enxertia de material infectado e inoculação mecânica via extrato foliar tamponado ou ferramenta de corte (ANJOS et al., 2001; ZERBINI et al., 2005; DI PIERO et al., 2006). NARITA et al. (2011) afirmam que o CABMV não é transmitido via sementes, forma mais utilizada de produção de mudas.

Experimentalmente, o vírus do endurecimento dos frutos infecta plantas das famílias Amaranthaceae, Fabaceae, Chenopodiaceae, Solanaceae e Cucurbitaceae (NASCIMENTO et al., 2004; NOVAES; REZENDE, 2005; ZERBINI et al., 2006; NASCIMENTO et al., 2006), além das espécies de *Passiflora*, mantendo assim constantemente as fontes de inóculo no campo. Nenhuma espécie da família Aphididae coloniza especificamente o maracujazeiro (SOUSA-SILVA; ILHARCO, 1995). Entretanto, esses afídeos podem se hospedar no maracujá, caso não encontrem o hospedeiro específico. A relação vírus-vetor é do tipo não persistente, ou seja, o vírus não circula no organismo do afídeo. Tanto a obtenção como a inoculação do vírus pelo inseto é instantânea, durante as picadas de prova (DI PIERO et al., 2006). Para continuar disseminando o vírus, o afídeo precisará alimentar-se novamente de uma planta infectada para adquirir o mesmo (YUKI et al., 2006).

Dentre as estratégias de manejo pode-se citar a utilização de mudas saudáveis; erradicação das plantas sintomáticas; eliminação de pomares velhos ou abandonados antes do início da nova plantação; cuidados nas operações de poda e desbrota para evitar

a transmissão mecânica do vírus; não consorciar o maracujazeiro com plantas das famílias Amaranthaceae, Fabaceae, Chenopodiaceae, Solanaceae e Cucurbitaceae que possam atuar como reservatórios naturais do vírus. Estas são ações que reduzem de forma eficiente a infecção e o inóculo, impedindo o prejuízo em perdas de produtividade de genótipos de maracujazeiro azedo infectados com o CABMV (SAMPAIO et al., 2008; FISCHER et al., 2008). Segundo Meletti et al. (2005) não se recomenda o controle químico de vetores para essa virose, uma vez que o vírus é transmitido por meio de uma única picada de prova do vetor.

Os recursos genéticos de *Passiflora* mantido nos bancos ativos de germoplasma são essenciais para o desenvolvimento de novos materiais, por conservar a máxima variabilidade do gênero, uma vez que, o germoplasma é formado por acessos com vários genes de interesse e com o potencial agrônomo (FREITAS et al., 2011; BUENO et al., 2001). Estudos de caracterização e avaliação dos materiais presentes no germoplasma são fundamentais, pois permitem observar o potencial e a variabilidade presente nos acessos (FREITAS et al., 2011)

A variabilidade genética presente em *Passiflora* tem contribuído, nos últimos anos, para o melhoramento genético explorar características de interesse em plantas e frutos (OLIVEIRA, 2013). A exploração dessa variabilidade genética pelo melhoramento visa à qualidade do fruto, o aumento na produtividade e a busca por fontes de resistência ou tolerância para o controle de doenças (VIANA; GONÇALVES, 2005; FALEIRO et al., 2006; MELETTI, 2011). Segundo Viana et al. (2004) massa e número de frutos são características importantes a serem melhoradas para o aumento da produtividade. Desse modo, o direcionamento do melhoramento genético deve obedecer ao mercado *in natura* ou à indústria de sucos (BRUCKNER et al., 2002). Assim, para alcançar boa aceitação comercial, buscam-se frutos grandes, ovais, maior rendimento da polpa, acidez elevada e ao alto teor de sólidos solúveis para o mercado *in natura* e indústria de sucos (GOMES et al., 2006).

Dentre as estratégias de melhoramento o uso de espécies silvestres do gênero *Passiflora* tem sido bastante explorado, pois apresentam atributos de interesse para os melhoristas como resistência as principais doenças que afetam a passicultura, período longo de florescimento e maior adaptação a estresse abiótico (JUNQUEIRA et al., 2005; MELETTI et al., 2005). O aumento da frequência de genes favoráveis e a exploração do vigor híbrido são etapas dos programas de melhoramento (MELETTI; BRUCKNER, 2001).

Em termos de compatibilidade genética, considerando a diversidade, muitas destas espécies silvestres podem ser utilizadas em cruzamento interespecífico com o maracujazeiro azedo, visando à obtenção de variedades resistentes para as várias doenças (JUNQUEIRA et al., 2005). Segundo Lopes (1994), as espécies de *Passiflora* podem ser classificadas de acordo com o número básico de cromossomos ($x = 6$; $x = 9$ e $x = 10$) de cada uma delas, sendo que os diploides apresentam-se com $2n = 12, 18, 20, 22, 24, 36$ e 84 . Em estudo com diversas espécies de *Passiflora*, Melo e Guerra (2003) relataram que as espécies *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. cincinnata* são citologicamente compatíveis, pois pertencem ao mesmo grupo cromossômico, caracterizado por apresentar $n = 9$ e quatro sítios de DNAr 45S.

Dentre as principais estratégias de melhoramento genético utilizado em *Passiflora*, as hibridações interespecíficas para a transferência de resistência de um acesso resistente para um genótipo suscetível têm sido recomendadas (BRUCKNER et al., 2002). O processo de hibridação no gênero *Passiflora* pode ser realizado entre indivíduos da mesma espécie ou entre espécies diferentes (MELETTI et al., 2005). Segundo Souza et al. (2008), as espécies silvestres *P. setacea*, *P. coccinea*, *P. glandulosa*, *P. caerulea*, *P. mucronata*, *P. alata*, *P. nitida* e *P. galbana* podem ser utilizadas em processos de hibridações interespecíficas com o maracujazeiro amarelo, devido a compatibilidade genética entre espécies de maracujazeiro. Oliveira et al. (2013) relata que a espécie *P. cincinnata* possui atributos importantes para o melhoramento genético como resistência a doenças foliares.

Quando o cruzamento interespecífico convencional não se torna viável, se faz necessário o uso de técnicas biotecnológicas, como a cultura de tecidos, hibridações interespecíficas artificiais por fusão de protoplastos e transformações genéticas (LIMA et al., 2000; MELETTI et al., 2005; TREVISAN; MENDES, 2006). Para que a obtenção do híbrido seja viável, é necessário que as espécies utilizadas apresentem homologia genômica (PEREIRA et al., 2005). De acordo com Priolli (1991), híbridos interespecíficos podem apresentar dificuldade de desenvolvimento e florescimento, viabilidade de pólen, baixa viabilidade devido a diferentes números de cromossomos e alta variação morfológica nos frutos. Segundo esses mesmos autores, são necessárias várias gerações de retrocruzamento com o genitor comercial para conseguir recuperar as características desejáveis. O termo recorrente sugere que o cruzamento entre dois indivíduos seja realizado e o híbrido F1, retrocruzado em sucessivas gerações com o genitor recorrente (BORÉM, 1997).

O maracujazeiro amarelo tem sido considerado como um excelente genitor por apresentar florescimento abundante, índices de germinação previsíveis e sementes viáveis por bastante tempo em condições normais de armazenamento (MELETTI; BRUCKNER, 2001; MELETTI et al., 2005). O método de retrocruzamento tem como objetivo a recuperação do genitor recorrente, e o número de retrocruzamentos necessários dependem da distância entre as espécies e do grau de recuperação desejado do genitor recorrente (BORÉM, 1997).

Dentro de um programa de melhoramento, a caracterização do germoplasma consiste em uma importante atividade de identificar e descrever todos os indivíduos (VICENTE et al., 2005). No caso do maracujazeiro, descritores morfológicos e agronômicos têm sido utilizados para a caracterização de acessos de germoplasma de *Passiflora* (JESUS et al., 2013). De acordo com Costa et al. (2009), a caracterização de genótipos através de descritores morfoagronômicos são imprescindíveis, desde que os caracteres apresentem alta herdabilidade, sofram pouca influência de fatores abióticos e não apresente dificuldades na identificação e avaliação das características.

Brandão (2011) relata que os caracteres podem ser obtidos através de escalas de notas (qualitativas), ou por mensurações (quantitativas) em diferentes fases de desenvolvimento do indivíduo. As variáveis qualitativas ou multicategóricas possuem alta herdabilidade e são mensuradas a partir de categorias ou classes, entretanto, as variáveis quantitativas possuem baixa herdabilidade e são obtidas através de valores numéricos contínuos ou discretos (CRUZ; CARNEIRO, 2003).

Outro método de caracterização de germoplasma de maracujazeiro é o uso de marcadores moleculares do DNA, onde as informações geradas sobre a variabilidade genética auxiliam nas diversas etapas de melhoramento, além de serem mais precisas, caracterizam mais acessos em menor tempo e obtenção de resultados mais rápidos (LEVI et. al., 2000; CERQUEIRA-SILVA et., 2010). De modo geral, marcadores moleculares são mais eficientes, na confiabilidade dos dados, que os descritores morfológicos no estudo da variabilidade genética existente entre os genótipos.

O uso de marcadores moleculares é mais uma ferramenta viável devido a obtenção de polimorfismos genéticos ilimitado em qualquer fase de desenvolvimento da planta e ausência de influência ambiental (FALEIRO, 2007). Esta técnica permite a identificação de genes inerentes à espécie e genótipo superiores associando características fenotípicas com os marcadores (VIEIRA et al., 2005).

Dentre as técnicas moleculares, destacam-se os marcadores baseados em elementos transponíveis (TEs - *Transposable Elements*) que são fragmentos de DNA

que possuem a capacidade de se mover entre regiões de um genoma, elevando assim a variabilidade genética dos indivíduos (KIDWELL; LISCH, 1997; CAPY et al., 1998). Os elementos transponíveis formam uma porção bastante significativa das espécies vegetais, podendo ultrapassar 80% do genoma (MEYERS, et al., 2001).

Entre os elementos transponíveis, os retrotransposons, constituem os principais componentes do genoma das plantas (FESCHOTTE et al., 2002). Segundo Schulman et al. (2012), os retrotransposons vem sendo utilizados como marcadores moleculares para agregar informações ao processo de melhoramento genético, devido ao polimorfismo e aos fragmentos dinâmicos do genoma estudado. Os retrotransposons se movimentam no genoma através de um intermediário de RNA que é codificado para DNA por uma transcriptase reversa, produzida por eles mesmos, antes da sua nova inserção, ou seja, os retrotransposons não sofrem excisão e reinserção em outro ponto do genoma, sua transposição ocorre com a inserção de uma nova cópia no genoma, reverso transcrita a partir de um mRNA (KUMAR; BENNETZEN, 1999; KALENDAR et al., 2010).

Marcadores moleculares baseados em retrotransposons com regiões LTRs (*Long Terminal Repeats*) vêm sendo muito utilizados e suas aplicações vão desde investigações de ativação dos retrotransposons, estudos de biodiversidade, evolução do genoma, para o mapeamento de genes e estimativa de distância genética (SMYKAL et al., 2011; GUO et al., 2012; GAILITE;RUNGIS, 2012; SANTOS et al., 2014). Os LTRs possuem longas repetições nucleotídicas nas duas extremidades dos fragmentos genômicos (Figura 2) (KALENDAR et al., 2011).

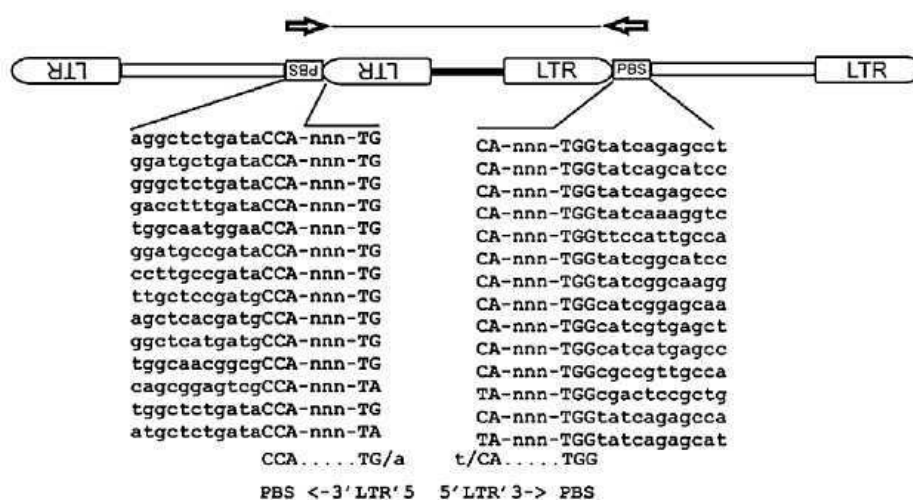


Figura 2. Esquema geral da estrutura dos retrotransposons com LTRs. Fonte: Kalendar et al. (2010).

Com base nas sequências de retrotransposons Kalendar et al. (2010), desenvolveram um tipo de marcador molecular (iPBS - *inter-primer binding site*) universal (Figura 2). Os marcadores iPBS têm desempenhado um papel importante na caracterização genética de genótipos, pois os LTRs são abundantes e bem distribuídos no genoma (KALENDAR et al., 2010; SCHULMAN et al., 2012). Ainda assim, os retrotransposons geralmente mostram dispersão cromossômica, número de cópias variável e distribuição aleatória no genoma (KALENDAR et al., 1999). A utilização de marcadores moleculares retrotransposons é eficiente em programas de introgressão de genes de resistência por retrocruzamento, pois os fragmentos LTRs encontrados são abundantes e dispersos em várias regiões do genoma (SCHULMAN, 2007).

REFERÊNCIAS

- ANJOS, J. R. N.; JUNQUEIRA, N. T. V.; CHARCHAR, M. J. A. **Incidência e distribuição do vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro do cerrado do Brasil Central**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2001. 17p.
- BARROS, D. R.; ALFENAS, Z. P.; BESERRA, J. E. A.; ANTUNES, T. F. S.; ZERBINI, F. M. Comparative analysis of the genomes of two isolates of Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) obtained from different hosts. **Archives of virology**, v. 156, p. 1085-1091, 2011.
- BERNACCI, L. C.; MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; PASSOS, I. R. S. Espécies de maracujá: caracterização e conservação da biodiversidade. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p.559-586, 2005.
- BEZERRA, D. R.; LIMA, J. A. A.; XAVIER FILHO, J. Purificação e caracterização de um isolado cearense do vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p.553-560, 1995.
- BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, 1997. 547 p.
- BRANDÃO, L. P. **Seleção de descritores morfoagronômicos em bananeira por meio de procedimentos uni e multivariados**. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas. 61 p. 2011.
- BRUCKNER, C. H.; SUASSUNA, T. M. F.; REGO, M. M.; NUNES, E. S. Autoincompatibilidade do maracujá implicações no melhoramento genético. In: FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V., BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Embrapa Cerrados, Planaltina, n. 315-338, 2005.
- BRUCKNER, C. H.; MELETTI, L. M.; OTONI, W. C.; JUNIOR, F. M. Z. Maracujazeiro. In: BRUCKNER, C. H. **Melhoramento de fruteiras tropicais**, Viçosa: UFV, 373-410, 2002.
- BUENO, L. C. DE S.; MENDES, A. N. G.; CARVALHO, S. P. (2001) Melhoramento genético de plantas: princípios e procedimentos. Lavras: UFLA, 282p.

CAPY, P.; BAZIN, C.; HIGUET, D.; LANGIN, T. Dynamics and evolution of transposable elements. Austin, Texas: **Landes Bioscience**, p .197, 1998.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; CARDOSO-SILVA, C. B.; SANTOS, E. S. L.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S.; PEREIRA, A. S.; OLIVEIRA, A. C.; CORRÊA, R. X. Genetic diversity in wild species of passion fruit (*Passiflora trintae*) based on molecular markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 9, p. 2130-2137, 2010.

CHAGAS, C. M.; KITAJIMA, E. W.; LIN, M. T. Grave moléstia em maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) no Estado da Bahia, causado por um isolado do vírus do “woodiness” do maracujá. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, n. 2, p. 259-268, 1981.

CHAGAS, C. M.; GALLETI, S. R.; OLIVEIRA, J. M. Detecção de partículas semelhantes a vírus em *Passiflora alata* (Dryand). **Fitopatologia Brasileira**, v.17, p.218, 1992.

COSTA, F. R; SANTANA, T. N; SUDRÉ, C. P; RODRIGUES, R. Marcadores RAPD e caracteres morfoagronômicos na determinação da diversidade genética entre acessos de pimentas e pimentões. **Ciência Rural**, v. 39, p. 696-704, 2009.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. Diversidade genética. In: CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. (Ed.). **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético** Viçosa: UFV, v. 2, Cap. 6, p. 338-434. 2003.

CUNHA, M. A. P., BARBOSA, L. V., FARIA, G. A. Botânica. In: LIMA, A.A e CUNHA, M. A. P. **Maracujá: produção e qualidade na passicultura**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 396 p.

DI PIERO, R. M.; REZENDE, J. A. M.; YUKI, V. A.; PASCHOLATI, S. F.; DELFINO, M. A. Transmissão do *Passion fruit woodiness virus* por *Aphis gossypii* (Glover) (Hemiptera: Aphididae) e colonização de maracujazeiro pelo vetor. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 1, p. 139-140, 2006.

FALEIRO, F.; **Marcadores moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina –DF: Embrapa Cerrados, 2007, 102 p.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: demandas para**

a pesquisa. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2006. 54p.

FESCHOTTE, C.; JIANG, N.; AND WESSLER, S. R. Plant transposable elements: Where genetics meets genomics. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, p. 329-341, 2002.

FERREIRA, G. Propagação do maracujazeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, MG, v. 21, n. 206, p. 18-24, 2000.

FISCHER, I. H.; REZENDE, J. A. M. Diseases of passion flower (*Passiflora* spp.). **Pest technology**, v. 2, n. 1, p.1-19, 2008.

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, p. 1013-1020, 2011.

GAILITE, A.; RUNGIS, D. An initial investigation of the taxonomic status of *Saussurea esthonica* Baer ex Rupr. utilising DNA markers and sequencing. **Plant Systematics and Evolution**, v. 298, p. 913-919, 2012.

GOMES, T. S.; CHIBA, H. T.; SIMIONATO, E. M. R. S.; SAMPAIO, A. C. Seleção afruvec, em função das condições de armazenamento dos frutos. **Alimentos e Nutrição**, v. 17, p. 401-405, 2006.

GUO, D. L.; ZHANG, J. Y.; LIU, C. H.; ZHANG, G. H.; LI, M.; ZHANG, Q. Genetic variability and relationships between and within grape cultivated varieties and wild species based on SRAP markers. **Tree Genetics Genomes**, v.8, p. 789-800, 2012.

IBGE. Instituto Brasileiro de geografia e estatística. Produção agrícola municipal: Culturas temporárias e permanentes. 2015. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/>> Acesso em: 20/01/2016.

INOUE, A. K.; MELLO, R. N.; NAGATA, T.; KITAJIMA, E. W. Characterization of *Passion fruit woodiness virus* isolates from Brasília and surrounding region, Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p.479-485, 1995.

KALENDAR, R.; FLAVELL, A. J; ELLIS, T.H.N; SJAKSTE, T.; MOISY, C.; SCHULMAN, A. H. Analysis of plant diversity with retrotransposon-based molecular markers, **Heredity**, v. 106, p. 520-530, 2011.

KALENDAR, R.; ANTONIUS, K.; SMYKAL, P.; SCHULMAN, A. H. iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 121, p. 1419-1430, 2010.

KALENDAR, R.; GROB, T.; REGINA, M.; SUONIEMI, A.; SCHULMAN, A. H. IRAP and REMAP: Two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 98, p. 704-711, 1999.

KIDWELL, M. G; LISCH, D. R. Transposable elements as source of variation in animals and plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 94, n. 15, p. 7704-7711, 1997.

KUMAR, A.; BENNETZEN; J. L. Plant retrotransposons. **Annual Review of Genetics**, v.33 p. 479-532, 1999.

JESUS, O. N.; FREITAS, J. P. X. ; DANTAS, J. L. L. ; OLIVEIRA, E. J. ; OLIVEIRA, E. J. Use of morpho-agronomic traits and DNA profiling for classification of genetic diversity in papaya. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, p. 1-18, 2013.

JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; BERNACCI, L. C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V. e BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 341-358.

JUNQUEIRA, N. T. V.; FALEIRO, F. G.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. Uso de Espécies Silvestres de Passifloras no Pré-melhoramento do Maracujazeiro. In: LOPES, M. A.; FÁVERO, A. P.; FERREIRA, M. A. J. F.; FALEIRO, F. G. **Curso Internacional de pré-melhramento de plantas**. Brasília, DF: Embrapa, 2006. 184p.

LIMA, D. M.; GOLOMBIESKI, E. R.; AYUB, R. A. Aplicação de técnicas de biotecnologia à cultura e melhoramento do maracujazeiro. **Ciência Rural**, v. 30, n. 2, p. 359-363, 2000.

LEVI, A.; THOMAS, C. E.; KEINATH, T. C. Estimation of genetic diversity among *Citrullus* accessions using RAPD markes. **Acta Horticulturae**, v.510, p.385-390, 2000.

LOPES, S. C. Citogenética do maracujazeiro – *Passiflora* spp. In: SÃO JOSÉ, A. B. (Ed.) **Maracujá: produção e mercado**. Vitória da Conquista, UFBA, 1994. p.19-23.

MANICA, I. **Fruticultura tropical 1**: Maracujá. São Paulo, Editora Agronômica Ceres, 1981. 151p.

MANICA, I. Maracujazeiro: Taxionomia-anatomia-morfologia. In: **Maracujá**: Temas selecionados 1) melhoramento, morte prematura, polinização, taxionomia. Porto Alegre: Cinco Continentes, p.7-24, 1997.

MATTA, F. P. **Mapeamento de QRL para *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* em maracujá-azedo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.)**. 230p. Tese de Doutorado - Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz - USP, Piracicaba, 2005.

MARTINS, I.; PEIXOTO, J. R.; MELLO, S. C. M.; JUNQUEIRA, N. T. V. **Reação de progênes de maracujazeiro-amarelo ao fungo *Colletotrichum gloeosporioides***. Embrapa recursos genéticos. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 145. Brasília, 2006.

MCNIGHT, T. The woodiness virus of the passion vine (*Passiflora edulis* Sims.). **Queensland Journal of Agricultural Science**, v. 10, p. 4-35, 1953.

MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do Maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. especial, p. 83-91, 2011.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; PASSOS, I. R. S. (2005) 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, DF: Embrapa Cerrados, 55-78p.

MELETTI, L. M. M.; BERNACCI, L. C.; SOARES-SCOTT, M. D.; AZEVEDO FILHO, J. A.; MARTINS, A. L. M. Variabilidade genética em caracteres morfológicos, agronômicos e citogenéticos de populações de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, p.275-278, 2003.

MELETTI, L. M. M.; BRUCKNER, C. H. Melhoramento genético. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. (Ed.) **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, p. 345-385, 2001.

- MELO, N. F.; GUERRA, M. Variability of the 5S and 45S DNAr sites in Passifloraceae L. species with distinct base chromosome numbers. **Annals of Botany**, London, v. 92, p. 309-316, 2003.
- MEYERS, B. C.; TINGEY, S. V.; MORGANTE, M. Abundance, distribution, and transcriptional activity of repetitive elements in the maize genome. **Genome Research**, n. 11, p.1660-1676, 2001.
- NARITA, N. Y.; VALDIR, A.; PAVAN, M. A. Não transmissibilidade do CABMV do maracujazeiro por sementes. **Summa Phytopathologica**, v.37, p.221, 2011.
- NASCIMENTO, A.V. S.; SANTANA, E. N.; BRAZ, A. S. K.; ALFENAS, P. F.; PIO-RIBEIRO, G.; ANDRADE, G. P.; CARVALHO, M. G.; ZERBINI, F. M. *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) is widespread in passionfruit in Brazil and causes passionfruit woodiness disease. **Archives of Virology**, v.151, p.1797-1809, 2006.
- NASCIMENTO, A. V. S.; SOUZA, A. R. R.; ALFENAS, P. F.; ANDRADE, G. P.; CARVALHO, M. G.; PIO-RIBEIRO, G.; ZERBINI, F. M. Análise filogenética de potyvírus causando endurecimento dos frutos do maracujazeiro no Nordeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p. 378-383, 2004.
- NOVAES, Q. S., REZENDE, J. A. M. Protection between strains of *Passion fruit woodiness virus* in sunnhemp. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 307-311, 2005.
- OLIVEIRA, E. J.; SOARES, T. L.; BARBOSA, C. J.; SANTOS-FILHO, H. P.; JESUS, O. N. Severidade de doenças em maracujazeiro para identificação de fontes de resistência em condições de campo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 485-492, 2013.
- PEIXOTO, M. Problemas e perspectivas do maracujá ornamental. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Ed.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005, p. 457-467.
- PEREIRA, T. N. S.; NICOLI, R. G.; MADUREIRA, H.C.; DAMASCENO JUNIOR, P. C.; GABURRO, N. O. P.; COUTINHO, K. Caracterização morfológica e reprodutiva de espécies silvestres do gênero *Passiflora*. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PINTO, A. C. Q; SOUSA, E. S. **IV Reunião técnica de pesquisas em maracujazeiro**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 29-34.

PRIOLLI, R. H. G. **Avaliação morfológica de híbridos entre *Passiflora* spp. e comportamento em relação ao nematóide formador de galhas *Meloydogine incognita* Kofoid, White (1919) Chitwood (1949) raça 1.** Jaboticabal, SP., 1991. 88p. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária – UNESP.

REIS, R. V.; OLIVEIRA, E. J.; VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S. Diversidade genética em seleção recorrente de maracujazeiro-amarelo detectada por marcadores microssatélites, **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.46, p.51–57, 2011.

REZENDE, J. A. M. Práticas culturais para prevenção e convivência com as viroses do maracujazeiro. In: SAMPAIO, A. C.; FUMIS, T. F.; ROSSI, A. D.; ALMEIDA, A. M.; GARCIA, M. J. M. (Eds.). **Manejo no controle do vírus do endurecimento dos frutos (PWV) do maracujazeiro.** Jaboticabal: Multipress, p.47-58, 2006.

SANTOS, A. A.; PENHA, H. A.; BELLEC, A.; MUNHOZ, C.; PEDROSA-HARAND, A.; BERGÈS, H.; VIEIRA, M. L. Begin at the beginning: A BAC-end view of the passion fruit (*Passiflora*) genome. **BMC Genomics**, v. 15, p. 816, 2014.

SÃO JOSÉ, A. R. **A cultura do maracujazeiro: produção e mercado.** Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 1994. 255p.

SAMPAIO, A. C.; SCUDELLER, N.; FUMIS, T. F.; ALMEIDA, A. M.; PINOTTI, R. N.; GARCIA, M. J. M.; PALLAMIN, M. L. Manejo cultural do maracujazeiro-amarelo em ciclo anual visando à convivência com o vírus do endurecimento dos frutos: um estudo de caso. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 343-347, 2008.

SCHULMAN, A. H.; FLAVELL, A. J; PAUX, E.; ELLIS, T. H. The application of LTR retrotransposons as molecular markers in plants. **Methods Molecular Biology**, v. 859, p.115-153, 2012.

SCHULMAN, A. H. Molecular markers to assess genetic diversity. **Euphytica**, v.158, p. 313-321, 2007.

SILVA, L. A. **Cowpea aphid-borne mosaic virus na cultura do maracujazeiro: avaliação da tolerância de acessos avançados e efeito nutricional.** Dissertação (Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) - São Paulo - SP, Instituto Biológico, 76p. 2012.

SMYKAL, P.; BACOVA-KERTESZOVA, N.; KALENDAR, R.; CORANDER, J.; SCHULMAN, A. H.; PAVELEK, M. Genetic diversity of cultivated flax (*Linum usitatissimum* L.) germplasm assessed by retrotransposon-based markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v.122, p. 1385-1397, 2011.

SOUZA, J. S. I.; MELETTI, L. M. M. **Maracujá: espécies, variedades, cultivo**. Piracicaba: FEALq, 1997. 179p.

SOUSA, M. A. F. **Avaliação da produtividade, incidência, e severidade de doenças em frutos de 17 progênies de maracujazeiro-amarelo, cultivados no Distrito Federal**. 2005. 120f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2005.

SOUSA-SILVA, C. R.; ILHARCO, F. A. **Afídeos do Brasil e suas plantas hospedeiras** (lista preliminar). São Carlos: EDUFSCar. 1995. 85p.

SOUZA, M. M.; PEREIRA, T. N. S.; VIEIRA, M. L. C. Cytogenetic studies in some species of *Passiflora* L. (Passifloraceae): a review emphasizing Brazilian species. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 2, p. 247-258, 2008.

SUASSUNA, T. M. F.; BRUCKNER, C. H.; CARVALHO, C. R.; BORÉM, A. Self-incompatibility in passion fruit: evidence of gametophytic-sporophytic control. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 106, p. 298-302, 2003.

TAYLOR, R. H.; GREBER, R. S. *Passion fruit woodiness virus*. CMI/AAB, **Description of Plant Viruses**, n.122, 1973.

TRINDADE, D. R.; POLTRONIERI, L. S.; ALBUQUERQUE, F. C.; REZENDE, J. A. M.; NOVAES, Q. S. D.; KIMATI, H. Ocorrência do “*Passion fruit woodiness virus*” (PWV) em maracujazais no Estado do Pará. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, p. 76-79, 1999.

TREVISAN, F.; MENDES, B. M. J. Resistance to Passion fruit woodiness virus in transgenic passionflower expressing the virus coat protein gene. **Plant Disease**, v. 90, n. 8, p.1026-1030, 2006.

VANDERPLANK, J. **Passion flowers and passion fruit**. Massachusetts: The Mit Press, 1991. 176p.

VIANA, A. P.; GONÇALVES, G. M. Genética quantitativa aplicada ao melhoramento genético do maracujazeiro. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Ed.) **Maracujá germoplasma e melhoramento genético**. Brasília, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 243-274.

VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; SOUZA, M. M.; MALDONADO, J. F. M. Parâmetros genéticos em populações de maracujazeiro-amarelo. **Revista Ceres**, n.51, p.545-555, 2004.

VICENTE, M. C. de; GUZMÁN, F. A.; ENGELS, J.; RAMANATHA RAO, V. Genetic Characterization and its use in decision making for the conservation of crop germplasm. In: **The Role of Biotechnology**, Turin. Proceedings, p.121-128, 2005.

VIEIRA, L. M. C.; OLIVEIRA, E. J.; MATTA, F. P.; PÁDUA, J. G.; MONTEIRO, M. Métodos biotecnológicos aplicados ao melhoramento genético de maracujá. In: FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V. e BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. p. 411-453, 2005.

YAMASHIRO, T.; CHAGAS, C. M. Ocorrência de grave moléstia virótica em maracujá amarelo no Estado da Bahia. **Anais...5º Congresso Brasileiro de Fruticultura**, Sociedade Brasileira de Fruticultura, Pelotas - RS, p.915-917, 1979.

YUKI, V. A.; MIZOTE, F. A.; NARITA, N.; HOJO, H.; DELFINO, M. A.; OLIVEIRA, D. A. Epidemiologia do vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro na região produtora da Alta Paulista, SP. **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 19, 2006.

ZERBINI, F. M.; ALFENAS, P. F.; ANDRADE, E. C. O silenciamento de RNA como um mecanismo de defesa de plantas a vírus. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, n.13, p.191-244, 2005.

ZERBINI, F. M.; NASCIMENTO, A. V. S.; ALFENAS, P. F.; TORRES, L. B.; BRAZ, A. S. K.; SANTANA, E. N.; OTONI, W. C.; CARVALHO, M. G. Resistência ao endurecimento dos frutos em plantas transgênicas de maracujá-amarelo expressando em fragmento do genoma do CABMV., In: SAMPAIO, A.C.; FUMIS, T.F.; ROSSI, A. D.; ALMEIDA, A. M.; GARCIA, M. J. M. (Eds.). **Manejo no controle do vírus do endurecimento dos frutos (PWV) do maracujazeiro**. Jaboticabal: Multipress, p.59-68, 2006.

CAPÍTULO I

VARIABILIDADE GENÉTICA E REAÇÃO DE ACESSOS DE MARACUJAZEIRO AO *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV)

RESUMO

A exploração da variabilidade genética dentro do gênero *Passiflora* constitui uma atividade importante para identificação de fontes de resistência às principais doenças do maracujazeiro que limitam a qualidade e o potencial da cultura. Dentre as principais doenças, a virose do endurecimento dos frutos afeta severamente o maracujazeiro, reduzindo o ciclo da cultura e acarretando prejuízos para os produtores. O trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a reação dos acessos de *Passiflora* spp., ao *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) e verificar a variabilidade genética disponível por meio de descritores morfológicos qualitativos e quantitativos da flor. Foram avaliados 64 acessos do Banco de Germoplasma de maracujá da Embrapa Mandioca e Fruticultura. A resistência genética das plantas foi avaliada nas condições de campo no período de sete meses, utilizando uma escala de notas 1 (resistente) a 4 (altamente suscetível) que posteriormente foi convertido ao índice de severidade de doença e área abaixo da curva de progresso da doença. Para a caracterização morfológica foram utilizados 48 descritores, sendo 40 variáveis multicategóricas qualitativas e oito quantitativos. Para cada classe de descritor foram obtidas matrizes de dissimilaridade e posteriormente as matrizes dos dados qualitativos, quantitativos e conjunta (qualitativos e quantitativos) foram correlacionadas. A análise conjunta foi obtida utilizando duas estratégias: a primeira com base na soma das matrizes dos dados qualitativos e quantitativos (Matriz soma) e a segunda a matriz foi obtida com base nos dados dos descritores qualitativos e quantitativos (Matriz geral). Todas as matrizes de dissimilaridade foram obtidas com base no índice de Gower. A correlação das matrizes foi realizada com base no coeficiente de correlação de Pearson e a significância feita pelo teste Mantel com 1.000 permutações. Foram aplicadas as técnicas de análise agrupamento do método de otimização de Tocher e UPGMA e também empregado a análises discriminantes de Anderson. Os resultados com base na severidade para o CABMV permitiram a identificação de genótipos com resistência/tolerância genética

com destaque para os acessos BGP188 (*P. edulis* f. *flavicarpa*) e BGP 170 (*P. malacophylla*). Os agrupamentos indicaram a existência de variabilidade genética entre os indivíduos avaliados, apresentando grupos com potencial a serem utilizados em programas de melhoramento genético. Os descritores, através da análise conjunta de dados, possibilitaram um melhor ordenamento das espécies com detecção de variabilidade genética intraespecífica em genótipos de *P. edulis* f. *flavicarpa* e nas demais espécies silvestres do Banco de Germoplasma.

Palavras-chave: *Passiflora* spp., virose, germoplasma, morfologia.

CHAPTER I

GENETIC VARIABILITY AND REACTION TO PASSION FRUIT OF ACCESS *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV)

ABSTRACT

The exploitation of genetic variability within the genus *Passiflora* is an important activity to identify the main passion of disease resistance sources that limit the quality and potential of culture. Among the major diseases, the fruit of hardening of the virus severely affects the passion fruit, reducing the crop cycle, resulting in losses for producers. The study was conducted in order to evaluate the reaction of *Passiflora* spp. access to *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) and verify the genetic variability available through qualitative and quantitative morphological flower descriptors. They evaluated 64 passion fruit accesses the Germplasm Bank of Embrapa Cassava and Fruits. The genetic resistance of plants was evaluated under field conditions for seven months, using a scale of notes 1 (resistant) to 4 (highly susceptible) which was subsequently converted disease severity index and area under the disease progress curve. For the morphological characterization were used descriptors 48, 40 multicategoric qualitative variables and quantitative eight. For each descriptor class dissimilarity matrices were obtained and later the headquarters of the qualitative data, quantitative and joint (qualitative and quantitative) were correlated. The analysis was obtained using two strategies: the first based on the sum of the matrices of qualitative and quantitative data (matrix sum) and the second to die was obtained based on data from qualitative and quantitative descriptors (general matrix). All dissimilarity matrices were obtained based on the Gower index. The correlation of the arrays was accomplished based on the Pearson correlation coefficient and significance taken by mantel test with 1000 permutations. The cluster analysis techniques of Tocher and UPGMA method and also employed the discriminant analysis of Anderson were applied. The results based on severity for CABMV allowed the identification of genotypes with resistance/tolerance gene highlighting the BGP188 access (*P. edulis* f. *flavicarpa*) and BGP 170 (*P. malacophylla*). Groupings indicated the existence of genetic variability among the evaluated individuals, with groups with potential for use in breeding programs. The descriptors through the joint analysis of data, enabled better

planning of species with genetic variation detection intraspecific in genotypes *P. edulis* f. *flavicarpa* and in other wild species of the Germplasm Bank.

Keywords: *Passiflora* spp., viruses, germplasm, morphology.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* é bastante cultivado em regiões tropicais e subtropicais do mundo. Mais de 500 espécies neste gênero têm sido identificadas e a maioria delas é distribuída por toda a América Central e do Sul (BERNACCI et al., 2005). Dentre o continente americano, o Brasil é apontado como importante centro de diversidade do maracujá, por possuir mais de 140 espécies nativas do gênero *Passiflora* (FERREIRA, 2005). Além do país ser considerado o maior produtor mundial de maracujá amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa* Deg.), com 838.244 toneladas numa área aproximada de 56.825 hectares. A Região Nordeste tem liderado a produção brasileira, respondendo por mais da metade da produção nacional (IBGE, 2014).

Vários fatores limitam a qualidade e o potencial da cultura, dentre as quais se destaca a ocorrência de virose do endurecimento do fruto e a falta de variedades com resistência às principais doenças e adaptadas às condições climáticas dos principais pólos produtores. Dentre as doenças, a virose causada pelo *Cowpea aphid-born mosaic virus* (CABMV) (NASCIMENTO et al., 2006) afeta severamente a cultura, reduzindo a vida útil dos pomares de maracujazeiro (NASCIMENTO et al., 2004) em virtude das deformações foliares, endurecimento do pericarpo dos frutos e redução da polpa (KITAJIMA et al., 1986).

A identificação de fontes de resistência é imprescindível para obtenção de novas variedades com atributos desejáveis. A ampla variabilidade genética do gênero *Passiflora* (OLIVEIRA et al., 2013) torna-se ideal para prospectar espécies silvestres com genes de resistência ao CABMV (MACIEL et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2013; CORREA et al., 2015; SANTOS et al., 2015; FREITAS et al., 2015). Além disso, a identificação da variabilidade genética intraespecífica também é importante para o desenvolvimento de novas variedades com resistência as principais doenças (CERQUEIRA-SILVA et al., 2014) e com atributos desejáveis dos frutos.

Com a finalidade de estimar a diversidade genética presente no gênero *Passiflora*, deve-se primeiramente caracterizar morfoagronomicamente os indivíduos e selecionar materiais promissores para uso em futuras etapas de melhoramento (PAIVA et al., 2014). O conhecimento da variabilidade pode ser obtido através da caracterização morfológica, por meio de descritores qualitativos ou discretos e quantitativos ou contínuos. Os descritores qualitativos são mais interessantes por possuírem natureza genética simples, sofrem pouca influência ambiental e apresentam alta herdabilidade (VICENTE et al., 2005; PAIVA et al., 2014) e permitem deduções mais confiáveis dos

acessos de germoplasma, entretanto seu número é limitado e requer classes previamente estabelecidas (JESUS et al., 2013). Por outro lado, os descritores quantitativos, são imprescindíveis na avaliação do potencial agrônomo de uma nova variedade, porém mostram uma natureza genética complexa e sofrem elevada influência ambiental (JESUS et al., 2013). Desta forma, a avaliação conjunta da caracterização é uma alternativa interessante, pois quantifica e complementa o conhecimento da variabilidade genética de uma espécie (GONÇALVES et al., 2009).

A busca por informações no banco de germoplasma de *Passiflora*, quanto à variabilidade tornam-se cada vez mais essenciais na obtenção de uma variedade comercial com características agrônomicas desejáveis e resistentes às principais doenças. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a reação dos acessos de *Passiflora* spp., ao CABMV e verificar a variabilidade genética disponível por meio de descritores morfológicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de condução e genótipos avaliados

Foram avaliados 64 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Maracujazeiro da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Cada acesso foi composto por dez plantas provenientes de sementes. Os acessos pertenciam a nove espécies, sendo 47 de *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg., sete de *P. cincinnata* Mast., quatro de *P. setacea* DC., uma de cada espécie *P. alata* Curtis, *P. gibertii* N.E.Br., *P. malacophylla* Mast., *P. galbana* Mast., *P. bahiensis* Klotzsch e *P. maliformis* L. (Tabela 1). As plantas foram obtidas através de sementes. O banco está localizado no Município de Cruz das Almas, BA (12°48'S e 39°6'W, a 220 m de altitude), de clima tropical quente e úmido. O espaçamento utilizado foi de 2,0 m entre linhas e de 3,0 m entre plantas. Utilizou-se o sistema de condução em espaldeira vertical, com um fio de arame liso nº 12, a 2 m de altura do solo. Todos os tratos culturais foram feitos conforme recomendação técnicas para a cultura.

Tabela 1. Acessos de *Passiflora* spp. utilizados nas avaliações de virose e caracterização morfológica.

Nº	Acesso BAG	Espécies	Procedência
1	BGP005	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Jaboticabal - SP
2	BGP008	<i>P. gibertii</i> N.E.Br.	Jaboticabal - SP
3	BGP020	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Jaboticabal - SP
4	BGP031	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Vitória da Conquista - BA
5	BGP032	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Maringá - PR
6	BGP037	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Santarém - PA
7	BGP038	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Santarém - PA
8	BGP051	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Janaúba - MG
10	BGP061	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Jaboticabal - SP
11	BGP064	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Conceição do Jacuípe - BA
12	BGP077	<i>P. cincinnata</i> Mast.	Andaraí - BA
13	BGP109	<i>P. galbana</i> Mast.	-
14	BGP123	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Jaboticabal - SP
15	BGP129	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Jaboticabal - SP
16	BGP164	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Alagoinhas - BA
17	BGP165	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Alagoinhas - BA
18	BGP170	<i>P. malacophylla</i> Mast.	-
19	BGP176	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Cruz das Almas - BA
20	BGP177	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Alcobaça - BA
21	BGP181	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Piracicaba - SP
22	BGP182	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Piracicaba - SP
23	BGP183	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Piracicaba - SP
24	BGP184	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Piracicaba - SP
25	BGP185	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Piracicaba - SP
26	BGP188	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Piracicaba - SP
27	BGP200	<i>P. cincinnata</i> Mast.	Piracicaba - SP
28	BGP205	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Piracicaba - SP
29	BGP210	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Araguari - MG
30	BGP221	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Salvador - BA
31	BGP222	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Salvador - BA
32	BGP223	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Salvador - BA
33	BGP224	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Salvador - BA
34	BGP225	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Salvador - BA
35	BGP228	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Campinas - SP
36	BGP237	<i>P. setacea</i> DC.	Lagedinho - BA
37	BGP238	<i>P. setacea</i> DC.	Lagedinho - BA
38	BGP242	<i>P. setacea</i> DC.	Ibiquera - BA
39	BGP245	<i>P. setacea</i> DC.	Lagedinho - BA
40	BGP268	<i>P. cincinnata</i> Mast.	Ruy Barbosa - BA
41	BGP277	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Ruy Barbosa/Utinga - BA

(Continuação Tabela 1)

42	BGP292	<i>P. cincinnata</i> Mast.	Brotas de Macaúbas - BA
43	BGP300Pa	<i>P. cincinnata</i> Mast.	Curralinho - BA
44	BGP308	<i>P. cincinnata</i> Mast.	Ibiquera - BA
45	BGP311	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Nova Viçosa - BA
46	BGP324	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Planaltina - DF
47	BGP328	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Planaltina - DF
48	BGP330	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Cruz das Almas - BA
49	BGP334	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Stº Antônio de Jesus - BA
50	BGP336	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Itamarajú - BA
51	BGP340	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Rio Real - BA
52	BGP341	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Itamarajú - BA
53	BGP345	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Rio Real - BA
54	BGP348	<i>P. cincinnata</i> Mast.	Iaçu - BA
55	BGP417	<i>P. bahiensis</i> Klotzsch	-
56	BGP351	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Rio Real - BA
57	BGP354	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Itiúba - BA
58	BGP379	<i>P. maliformis</i> L.	-
59	BGP432	<i>P. alata</i> Curtis	-
60	BGP444	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	-
61	BRS Gigante Amarelo	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	-
62	BRS Ouro Vermelho	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	-
63	BRS Sol do Cerrado	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	-
64	BRS Rubi do Cerrado	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.	-

Pa: semente de polinização aberta(meios irmãos)

2.2 Identificação viral

Para comprovar a identidade do CABMV, *pool* de amostras de folhas de maracujazeiro com sintomas de mosaico e deformação foliar foram coletadas no campo e avaliadas por meio de RT-PCR (*Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction*). A extração de RNA total foi realizada a partir de 0,5 g do *pool* de folha de maracujazeiro infectado, com o Kit Axygen seguindo as recomendações do fabricante. A qualidade do RNA extraído foi avaliada em gel de agarose (1%). A síntese das moléculas de DNA complementares (cDNA) foi realizada com a enzima M-MLV *reverse transcriptase* (Invitrogen), seguindo as recomendações do fabricante. Para a reação de amplificação de DNA, através da PCR (*Polymerase Chain Reaction*), foram utilizados 5 µL do cDNA sintetizado e primers específicos, CIRev (5'-ACICCRTTYTCDATDATRTTIGTIGC-3') e CIFor (5'-

GGIVVIGTIGGIWSIGGIAARTCIAC-3'), desenhados para o anelamento em porções genômicas de espécies de *Potyvirus*, que amplificam fragmentos de DNA de aproximadamente 700 pb. As amplificações da PCR foram realizadas em termociclador programado para 5 minutos a 92 °C, seguido de 40 ciclos de 50 segundos a 92 °C, 1 minuto a 55 °C, 1 minuto e 30 segundos a 72 °C, com uma extensão final de 5 minutos a 72 °C e finalizando a 4°C. Os produtos da PCR foram analisados em gel de agarose (1%) corados com brometo de etídeo e visualizados na presença de luz ultravioleta.

2.3 Avaliação da severidade da virose em espécies de *Passiflora*

As avaliações dos sintomas da virose foram realizadas após a ocorrência natural da doença no campo. Foram realizadas avaliações a cada 15 dias no período de março a outubro de 2013, totalizando 15 avaliações em plantas com sete meses de idade. Utilizou-se o critério de sintomatologia visual, de acordo com a intensidade dos sintomas na planta. A severidade dos sintomas foliares foi avaliada por meio de uma escala de notas de 1 a 4, proposta por Novaes e Rezende (1999) e adaptada por Sousa (2005), sendo: 1- sem sintomas, 2- mosaico leve sem deformações foliares; 3- mosaico severo sem deformação foliar e 4- mosaico severo, bolhosidade e deformações foliares (Figura 1). Para cada planta avaliada foi calculado o índice de severidade das

doenças segundo McKinney (1923). Os dados da incidência de virose foram submetidos à análise de diversidade utilizando-se como medida de dissimilaridade a distância de Gower e método de agrupamento UPGMA (*Unweighted Pair Grouped Method Average*). Os dados obtidos por meio da escala de notas foram utilizados também para calcular a Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença (AACPD), de acordo com a metodologia de Simk e Piepho (2011) para cada genótipo avaliado, conforme a expressão:

$$AACPD = \bar{\gamma} \times n$$

em que:

$\bar{\gamma}$ = média aritmética de todas as avaliações;

n = número de observações.

Esta medida é utilizada quando todas as observações forem realizadas em intervalos regulares.

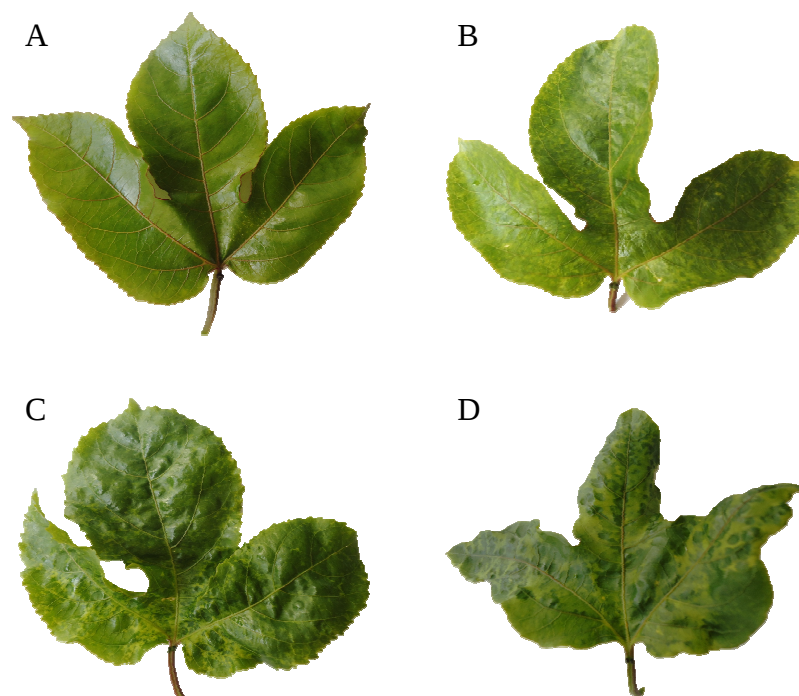


Figura 1. Folhas de maracujazeiro amarelo classificadas de acordo com a severidade: A) Folha sem sintomas (Nota 1); B) Mosaico leve sem deformações foliares (Nota 2); C) Mosaico severo sem deformação foliar (Nota 3); D) Mosaico severo, bolhosidade e deformações foliares (Nota 4). Fotos: Farias, D. da H.

2.4 Caracterização morfológica de genótipos de *Passiflora*

Para a caracterização morfológica, os 64 indivíduos foram avaliados mediante descritores morfológicos (JESUS et al., 2013). Os materiais foram caracterizados com o uso de 48 descritores, sendo 40 variáveis qualitativas, e oito quantitativas (Tabela 2).

Os dados qualitativos avaliados foram: coloração do ramo (CRA); comprimento do limbo foliar (CLF); largura máxima do limbo foliar (LMF); profundidade dos sinus (PRS); formato da folha (FOF); mancha na folha (MFO); bordas do limbo foliar (BLF); presença de pilosidade na folha (PPF); divisão do limbo foliar (DLF); forma bulada do limbo foliar (FBF); presença de heterofilia do limbo foliar (PHE); coloração da folha (COF); forma do ápice foliar (FAF); formato da margem foliar (FMF); presença de estípula (PES); presença de nectários foliares (PNE); número de nectários foliares (NNF); posição dos nectários foliares (PON); comprimento do pecíolo (COP); número de nectários do pecíolo (NNP); posição dos nectários do pecíolo (PNP); forma do hipanto (FHP); número de flores por nó (NFN); comprimento da bráctea (CBR);

presença de nectários na bráctea (PNB); número de nectários na bráctea (NNB); comprimento da sépala (CSE); largura da sépala (LSE); presença de nectário na sépala (PNS); número de nectários na sépala (NNS); diâmetro das extremidades da coroa (DEC); bandeamento nos filamento da coroa (BFC); coloração predominante dos anéis da coroa (CAC); largura dos anéis do filamento da coroa (LAC); comprimento da pétala (CPE); coloração do filamento do opérculo (CFO); filamentos mais longos da coroa (FLC); período predominante de antese (PPA); coloração predominante no perianto (pétalas e sépalas) região interna (CPP) e número de anéis coloridos nos filamentos da coroa (NAC).

Para os dados quantitativos das flores foram utilizados oito descritores: comprimento do androginóforo (CAN) em centímetros; diâmetro externo da coroa (DEEC) em centímetros; diâmetro interno da coroa (DIC) em centímetros; comprimento do pedicelo (CPD) em cm; comprimento da antera (CAN) em cm; largura da antera (LAN) em centímetros; comprimento do ovário (COV) em centímetros e diâmetro do ovário (DOV) em centímetros. As flores foram coletadas obedecendo-se o horário de abertura para cada acesso e as medições foram obtidas com o auxílio de paquímetro e os dados expressos em milímetros. Para cada característica foram avaliadas cinco plantas e tomada a moda para os dados qualitativos e para os quantitativos foi estimada a média (Tabela 2).

Tabela 2. Descritores morfológicos utilizados para caracterização de maracujazeiro do Banco de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Código	Descritores avaliados	Classes dos descritores
Descritores da Folha		
CRA	01. Coloração do ramo	1. Verde-clara; 2. Verde-escura; 3. Verde-arroxeadas; 4. Roxa.
CLF	02. Comprimento do limbo foliar	1. Curto (< 8 cm); 5. Médio (8-15 cm); 7. Longo (> 15 cm).
LMF	03. Largura máxima do limbo foliar	3. Estreita (< 8 cm); 5. Média (8-15 cm); 7. Larga (> 15 cm).
PRS	04. Profundidade dos sinus	1. Ausente; 3. Rasa; 5. Média; 7. Profunda.
FOF	05. Formato do limbo foliar	1. Lanceolada; 2. Ovada; 3. Cordata; 4. Oblonga; 5. Elíptica; 6. Fendida; 7. Partida; 8. Seccionada.
MFO	06. Mancha no limbo foliar	1. Ausente; 2. Presente.
BLF	07. Bordas do limbo foliar	1. Não serrilhadas; 2. Pouco serrilhadas; 3. Serrilhada.
PPF	08. Pilosidade do limbo foliar	1. Ausente; 2. Presente.
DLF	09. Divisão do limbo foliar	1. Simples; 2. Bilobada; 3. Trilobada; 4. Pentalobada; 5. Heptalobada.

FBF	10. Forma bulada do limbo foliar	1. Ausente; 2. Presente.
PHE	11. Heterofilia do limbo foliar	1. Ausente; 2. Presente.
COF	12. Coloração do limbo foliar	1. Verde-clara; 2. Verde; 3. Verde-escura; 4. Outra.
FAF	13. Forma do ápice foliar	1. Arredondado; 2. Atenuado; 3. Cuspidado; 4. Acuminado; 5. Agudo.
FMF	14. Formato da margem do limbo foliar	1. Inteira; 2. Repanda; 3. Denteada; 4. Serreada; 5. Sinuada.
PES	15. Presença de estípula	1. Ausente; 2. Presente.
PNE	16. Presença de nectários foliares	1. Ausente; 2. Presente.
NNF	17. Número de nectários foliares	0. Nenhum; 1. Pouco (1-2); 2. Mediano (> 2-4); 3. Elevado (>4).
PON	18. Posição dos nectários foliares	1. Basilaminar; 2. Laminar; 3. Marginal; 4. Nerviaxilar; 5. Apical.
COP	19. Comprimento do pecíolo	3. Curto (< 2c m); 5. Médio (2-4 cm); 7. Longo (> 4 cm).
NNP	20. Número de nectários do pecíolo	0. Nenhum; 1. Pouco (1-2); 2. Mediano (> 2-4); 3. Elevado (>4).
PNP	21. Posição dos nectários do pecíolo	1. Adjacente ao limbo foliar; 2. Próximo ao meio do pecíolo; 3. Adjacente à inserção da folha no ramo; 4. Distribuídos ao longo do pecíolo.
Descritores da Flor		
FHP	22. Formato do hipanto	1. Aplanada; 2. Campanulada; 3. Cilíndrica.
NFN	23. Número de flor por nó	1. Reduzido (1flor); 2. Médio (2-4 flores); 3. Grande (> 4 flores).
CBR	24. Comprimento da bráctea	1. Fundida (0 cm); 3. Curto (< 2 cm); 5. Médio (2-4 cm); 7. Longo (> 4 cm).
PNB	25. Presença de nectários na bráctea	1. Ausente; 2. Presente.
NNB	26. Número de nectários na bráctea	0. Nenhum; 1. Pouco (1-2); 2. Mediano (> 2-4); 3. Elevado (>4).
CSE	27. Comprimento da sépala	3. Curto (< 3 cm); 5. Médio (3-6 cm); 7. Longo (> 6 cm).
LSE	28. Largura da sépala	3. Estreita (< 1 cm); 5. Média (1-2 cm); 7. Larga (> 2 cm).
PNS	29. Presença de nectário na sépala	1. Ausente; 2. Presente.
NNS	30. Número de nectários na sépala	0. Nenhum; 1. Pouco (1); 2. Mediano (2-4); 3. Elevado (>4).
DEC	31. Diâmetro das extremidades da corona	3. Pequeno (< 5 cm); 5. Médio (5-10 cm); 7. Grande (> 10 cm).
BFC	32. Bandeamento nos filamento da corona	1. Ausente; 2. Presente.
CAC	33. Coloração predominante dos anéis da corona (exceto a cor branca)	1. Rosa; 2. Roxa.
LAC	34. Largura dos anéis do filamento da corona	3. Estreita (< 1,0 cm); 5. Média (1,0 -1,5 cm); 7. Larga (> 1,5 cm).
CPE	35. Comprimento da pétala	3. Curto (< 3 cm); 5. Médio (3-6 cm); 7. Longo (> 6 cm).
CFO	36. Coloração do filamento do opérculo	1. Ausente; 2. Roxo; 3. Branco + roxo; 4. Branco + rosa.
FLC	37. Filamentos mais longos da corona	1. Lisos; 2. Ondulados.
PPA	38. Período predominante de antese	1. Matutino; 2. Vespertino; 3. Noturno.
CPP	39. Coloração predominante no perianto (pétalas e sépalas) região interna	1. Branca; 2. Rosada; 3. Vermelha; 4. Vermelho - arroxeada; 5. Roxa; 6. Lilás; 7. Azul; 8. Outro.
NAC	40. Número de anéis coloridos (excluído brancos) nos filamentos da corona	1. Um; 2. Mais de um.
CAN	41. Comprimento do androginóforo	cm

(Continuação Tabela 2)

DEEC	42. Diâmetro externo da corona	cm
DIC	43. Diâmetro interno da corona	cm
CPD	44. Comprimento do pedicelo	cm
CAN	45. Comprimento da antera	cm
LAN	46. Largura da antera	cm
COV	47. Comprimento do ovário	cm
DOV	48. Diâmetro do ovário	cm

Para cada classe de descritor foram obtidas matrizes de dissimilaridade e posteriormente as matrizes dos dados qualitativos, quantitativos e conjunta (qualitativos e quantitativos) foram correlacionadas. A análise conjunta foi obtida utilizando duas estratégias: a primeira com base na soma das matrizes isoladas dos dados qualitativos e quantitativos (Matriz soma) e a segunda a matriz foi obtida com base nos dados dos descritores qualitativos e quantitativos (Matriz geral). Todas as matrizes de dissimilaridade foram obtidas com base no índice de Gower (GOWER, 1971). A correlação das matrizes foi realizada com base no coeficiente de correlação de Pearson e a significância feita pelo teste Mantel com 1.000 permutações.

Com as medidas de dissimilaridade foi realizada a análise de agrupamento pelo Método Hierárquico *Unweighted Pair-Group Method Using an Arithmetic Average* (UPGMA). Para testar a eficiência do método de agrupamento hierárquico, estimou-se o coeficiente de correlação cofenética (CCC). O software utilizado foi o programa GENES (CRUZ, 2013). O ponto de corte do dendrograma formado pelo método de UPGMA foi definido conforme o proposto por Mojena (1977). Além do método hierárquico foi utilizando o método de otimização de Tocher (CRUZ et al., 2004).

Para estabelecimento da função discriminante de Anderson para os caracteres qualitativos, quantitativos e todos os caracteres avaliados, consideraram-se as espécies *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. cincinnata* e *P. setacea*. Assim, as populações $\pi_1, \dots, \pi_n$, sendo $n \geq 2$, em que está associada a cada população π_i uma distribuição multivariada. Considerando a homogeneidade das matrizes de covariâncias, as funções discriminantes foram obtidas de acordo com a expressão (CRUZ, 2006):

$$D_i(\tilde{x}) = \ln(p_i) + \left(\tilde{x} - \frac{1}{2}\mu_i \right) \Sigma^{-1} \mu_i$$

Sendo:

$D_i(\tilde{x})$ = escore de classificação da população de 1 a 3;

Σ^{-1} = inversa da matriz de covariância;

x = vetor de variáveis representativas dos caracteres envolvidos na análise;

μ_i = vetor de médias dos caracteres envolvidos na análise;

p_i = probabilidade *a priori* de um indivíduo pertencer a uma população *i*.

O acesso foi classificado como pertencente a uma população (espécie) para o qual ele tem maior escore de classificação, ou seja, o indivíduo será classificado no grupo se (CRUZ, 2006):

$$D_j(\tilde{x}_i) = [D_1(\tilde{x}_i), D_2(\tilde{x}_i), D_3(\tilde{x}_i)]$$

A eficácia das funções discriminantes em classificar os genótipos, corretamente, nas populações previamente estabelecidas foi calculada pela taxa de erro aparente, que foi dada pela relação entre o número de classificações erradas e o número total de classificações (CRUZ, 2006).

A verificação do valor e significância da distância, com base na Distância de Mahalanobis (D^2), entre pares de população foi obtida por meio (CRUZ, 2006):

$$D_{jj'}^2 = (\hat{\mu}_j - \hat{\mu}_{j'})' S_c^{-1} (\hat{\mu}_j - \hat{\mu}_{j'})$$

em que: S_c^{-1} = inversa da matriz de covariância comum.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Confirmação do CABMV

A análise molecular confirmou a infecção do CABMV nas espécies estudadas do germoplasma, com amplificação do fragmento viral em torno de 700 pb Figura 2.

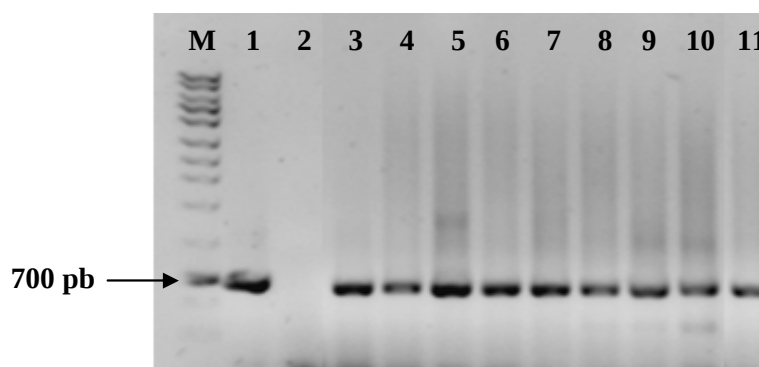


Figura 2. Perfil eletroforético resultante da técnica PCR em nove espécies de maracujazeiro. M: marcador 1kb Ladder. ♂: (1) Controle positivo de maracujazeiro infectado com isolado puro (CABMV); (2) Maracujazeiro amarelo sadio; (3) *P. edulis* f. *flavicarpa*; (4) *P. cincinnata*; (5) *P. setacea*; (6) *P. alata*; (7) *P. gibertii*; (8) *P. malacophylla*; (9) *P. galbana*; (10) *P. bahiensis* e (11) *P. maliformis*.

3.2 Avaliação da severidade de virose em espécies de *Passiflora*

A severidade de virose do endurecimento dos frutos causada pelo CABMV foi avaliada por análise de cluster derivada do índice de doença e pela área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). A presença de virose foi constatada logo na primeira avaliação, quando 81,3% dos acessos já tinham sintomas típicos de CABMV.

O acesso BRS Sol do Cerrado (índice de doença de 73,3%) obteve o maior valor de AACPD (31), apresentando os sintomas mais severos da doença (Figura 3). Em contrapartida, o acesso BGP170 (*P. malacophylla*), seguido pelo BGP417 (*P. bahiensis*) foi considerado resistente e tolerante à virose, respectivamente. A espécie *P. malacophylla* não possuía sintomas característicos da infecção pelo CABMV e obteve nota 1 em todas as avaliações. Segundo Viana (2007), resultados obtidos para AACPD e severidade são correspondentes.

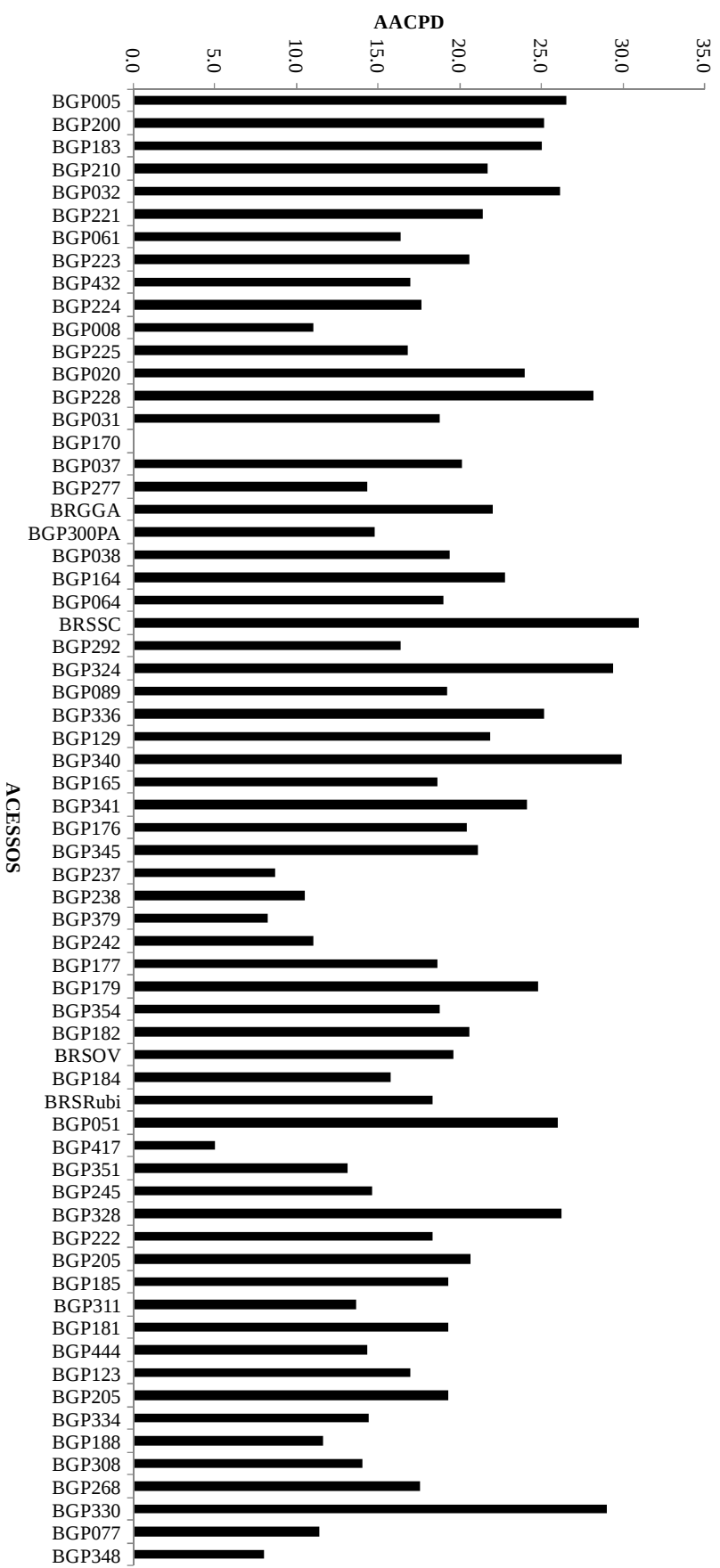


Figura 3. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), referente às médias de severidade dos sintomas para os acessos de *Passiflora* spp.

A análise de agrupamento, com base no índice de Gower, subdividiu os 64 acessos em quatro grupos de dissimilaridade genética com coeficiente de correlação cofenética de 0,85, indicando precisão na tomada de informação com base no dendrograma (Figura 4).

O grupo I corresponde essencialmente às espécies silvestres como *P. malacophylla* (BGP170), *P. galbana* (BGP109), *P. bahiensis* (BGP417), *P. cincinnata* (BGP348), *P. setacea* (BGP237, BGP238 e BGP242), *P. gibertii* (BGP008), *P. maliformis* (BGP379) e um acesso de *P. edulis* f. *flavicarpa* (BGP188). Neste grupo o índice de doença variou de 0% a 25,8%, com destaque para o BGP170 considerado resistente e os demais tolerantes.

O grupo II apresentou severidade variando de 29,1% a 39% sendo classificado como medianamente resistente. Este grupo foi formado por nove acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa* (BGP444, BGP277, BGP334, BGP311, BGP351, BGP123, BGP225, BGP184 e BGP061), cinco de *P. cincinnata* (BGP077, BGP308, BGP300Pa, BGP268 e BGP292), um acesso *P. setacea* (BGP245) e um acesso de *P. alata* (BGP432).

O grupo III corresponde a essencialmente 23 acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa* (BGP205, BGP182, BGP176, BGP223, BGP345, BRS Gigante Amarelo, BGP221, BGP129, BGP210, BGP164, BGP181, BGP185, BGP038, BGP089, BRS Ouro Vermelho, BGP037, BGP354, BGP031, BGP064, BGP222, BRS Rubi do Cerrado, BGP224, BGP177 e BGP165). Este grupo foi classificado como suscetível por apresentar índice de doenças variando de 40,7% a 50,7%.

O quarto grupo foi formado pelas espécies *P. edulis* f. *flavicarpa* (BRS Sol do Cerrado, BGP324, BGP340, BGP330, BGP228, BGP032, BGP328, BGP051, BGP005, BGP020, BGP341, BGP336, BGP183 e BGP179) e *P. cincinnata* (BGP200) consideradas altamente suscetíveis à virose, com índice de doença variando de 53,3% a 73,3%.

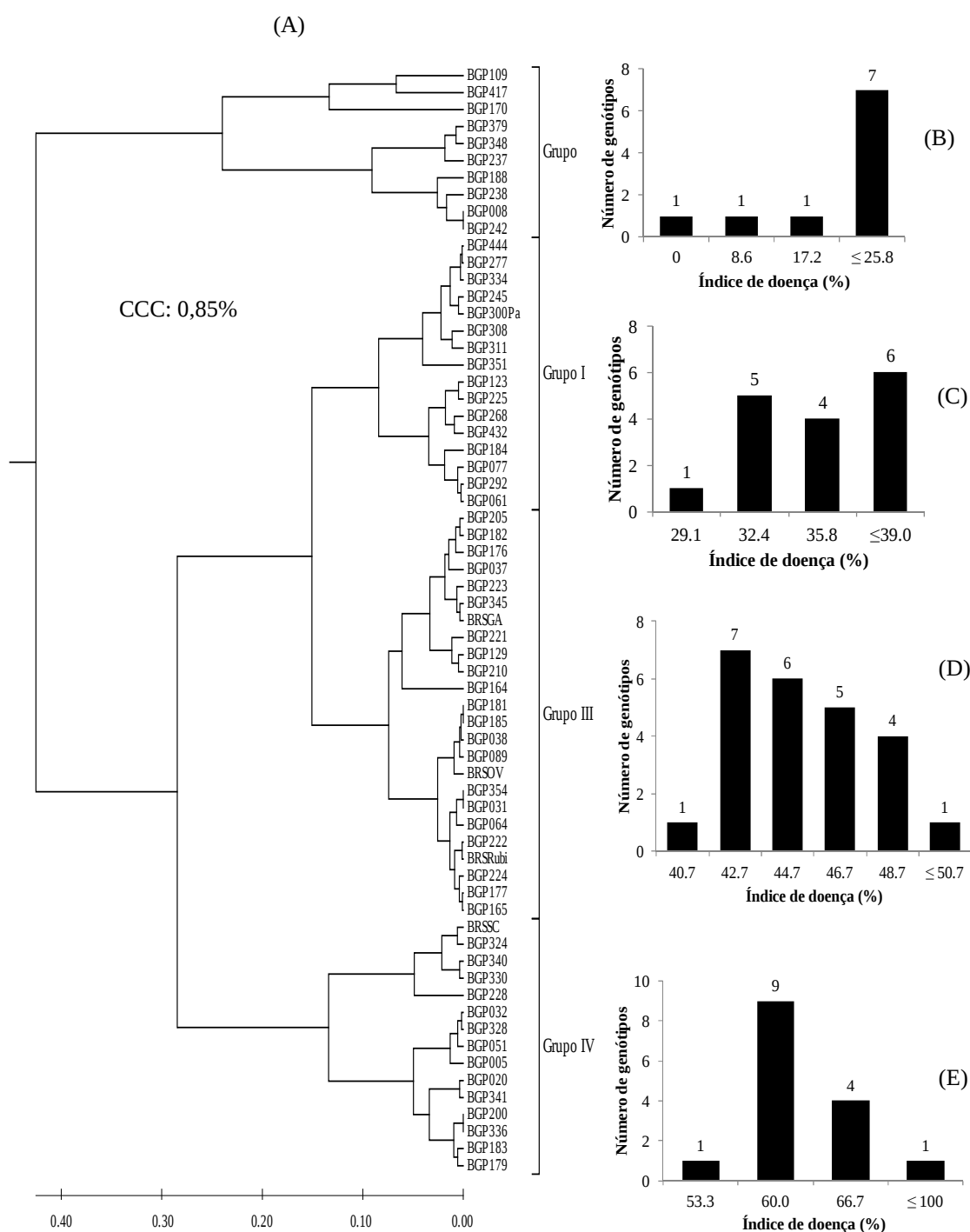


Figura 4. A) Dendrograma dissimilaridade genética dos acessos de maracujazeiro, com base na avaliação de virose utilizando-se a distância de Gower e obtida pelo método de agrupamento UPGMA. B) Histograma da distribuição de acessos tolerante; C) Histograma da distribuição de acessos medianamente resistente; D) Histograma da distribuição de acessos suscetível e E) Histograma da distribuição de acessos altamente suscetível.

Algumas plantas dos acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa*, apresentaram sintomas com diferentes intensidades sendo, na sua maioria, suscetíveis a virose. Este resultado corrobora com aqueles apresentados por Leão et al. (2006) e Pinto et al. (2008), que também classificaram genótipos de *P. edulis* f. *flavicarpa* como moderadamente resistentes e susceptíveis ao CABMV. Cerqueira-Silva et al. (2008), Cavichioli et al. (2011) e Oliveira et al. (2013) verificaram grande variabilidade dentro da espécie *P. edulis* e que todos os genótipos avaliados apresentaram um certo nível de suscetibilidade ao CABMV. Os diferentes resultados obtidos nos acessos de *P. edulis* podem ser atribuídos à variabilidade genética contida nessa população. Essa variabilidade pode estar também associada pelo fato da polinização cruzada condicionada pela autoincompatibilidade do maracujazeiro (SUASSUNA et al., 2003). Além disso, a virulência do patógeno e a expressão dos sintomas da doença também podem sofrer interferências de agentes abióticos (NOVAES; REZENDE, 1999). A suscetibilidade ao vírus do endurecimento dos frutos também foi verificada por Abreu (2006) em cultivares de maracujazeiro azedo BRS Gigante Amarelo e BRS Rubi do Cerrado.

Os acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa* podem ser utilizados em cruzamentos visando desenvolver uma população base para o desenvolvimento de variedades com tolerância a virose. Quanto aos acessos silvestres, estes poderiam ser utilizados para a introgressão dos genes de resistência no maracujazeiro amarelo por hibridação interespecífica. Estudos realizados por Amorim et al. (2011), Conceição et al. (2011), Santos et al. (2014) e Santos et al. (2015), relatam como promissores o uso de espécies silvestres para introgressão de genes de resistência em cruzamentos interespecíficos de *Passiflora*. Entretanto, para se obter êxito em cruzamentos interespecíficos em programas de melhoramento de *Passiflora*, torna-se necessária a compreensão das bases citológicas e genéticas das espécies utilizadas, principalmente no que se refere à compatibilidade, fertilidade e resistência às principais doenças do maracujazeiro.

3.3 Caracterização por descritores morfológicos de genótipos de *Passiflora*

As correlações entre a matriz de dissimilaridade qualitativa e matriz geral ($r = 0,97$), seguida da matriz qualitativa e matriz soma ($r = 0,94$) foram altamente significativas pelos testes t e pelo teste Z de Mantel. Os valores de correlações

mostraram-se altos e significativos, pois podem estar relacionados com o maior número de características qualitativas utilizadas (Tabela 3).

Esses resultados corroboram as pesquisas desenvolvidas por Moura et al. (2010) e Ledo et al. (2009), cuja análise conjunta dos dados apresentou valores de correlações elevados com as matrizes individuais para as variáveis quantitativas e qualitativas. Jesus et al. (2013) e Quintal et al. (2012) caracterizando genótipos de mamão através de descritores morfológicos obtiveram, na análise conjunta dos dados alta correlação para com as matrizes provenientes dos descritores quantitativos e qualitativos. Os mesmos autores ainda afirmam que as análises de todos os tipos de descritores combinados, podem representar melhor a variabilidade genética no mamão. Segundo Rocha et al. (2010), os dados individuais obtidos pelos descritores, qualitativos e quantitativos, podem dificultar a análise e a interpretação dos resultados de caracterização do germoplasma. Estes mesmos autores defendem a importância da análise conjunta de dados, pois permite melhor compreensão das características genéticas dos acessos estudados.

Tabela 3. Correlações entre as matrizes de distância genética, em acessos de maracujazeiro, obtidas com base nos descritores morfológicos.

	Qualitativa	Quantitativa	Matriz Soma
Quantitativa	0,03 ^{ns}	-	-
Matriz Soma	0,94 ^{**}	0,27 ^{**}	-
Matriz Geral	0,97 ^{**}	0,03 ^{ns}	0,94 ^{**}

** Significância a 1% de probabilidade de erro, pelo teste de Mantel com 1000 permutações.

Ao avaliar as demais correlações entre as matrizes de dissimilaridade genética, verifica-se a inexistência de correlação para os diferentes tipos de caracteres estudados devido aos baixos valores. Gomes (2007) ao avaliar a correlação entre medidas de dissimilaridade utilizadas na determinação da divergência genética de mandioca para caracteres multicategóricos e quantitativos, conferiu a inexistência de correlação entre as duas medidas de dissimilaridade devido ao baixo valor de correlação (0,09).

Os descritores quantitativos, analisados individualmente, não foram eficientes na discriminação dos acessos, não classificando corretamente as espécies estudadas. A incoerência dos grupos formados implica diferenciar indivíduos do banco de

germoplasma e combinações parentais geneticamente distantes, visando à utilização de distintos conjuntos gênicos para reconhecer a amplitude da base genética em cruzamentos para obtenção de híbridos (QUINTAL et al., 2012). Segundo Martinello et al. (2002), a não classificação correta das espécies pode estar relacionada com o fato de, caracteres quantitativos são controlados por um conjunto de genes, sendo extremamente afetadas pelo ambiente. A análise conjunta de dados, de natureza qualitativa e quantitativa, permite inferir com mais precisão na compreensão das características consideradas e a associação genética entre os acessos estudados.

3.4 Caracterização por descritores qualitativos de genótipos de *Passiflora*

De acordo com os caracteres fenotípicos qualitativos avaliados, pelo método de otimização de Tocher, observa-se a distribuição dos 64 acessos em seis grupos distintos (Tabela 4). Na formação dos grupos, 48 acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa* (75,7%) no grupo I; seis acessos de *P. cincinnata* (9,3%) e um de *P. bahiensis* (1,5%) no grupo II; quatro acessos de *P. setacea* (6,0%) no grupo III; um acesso *P. malacophylla* (1,5%) e um acesso *P. galbana* (1,5%) no grupo IV; um acesso *P. alata* (1,5%) e um acesso *P. maliformis* (1,5%) no grupo V e o grupo VI formado por apenas um acesso de *P. gibertii* (1,5%), indicando que este seja o mais divergente do total de grupos analisados. Segundo Cruz e Carneiro (2006) no método Tocher, um indivíduo ainda não agrupado só é incluído em determinado grupo se sua distância média em relação a esse grupo não ultrapassar determinado valor preestabelecido. Em geral, adota-se o critério de que a média das medidas de dissimilaridade, dentro de cada grupo, deve ser menor que as distâncias médias entre quaisquer grupos (CRUZ et al., 2004). Isso explica a separação em grupo distinto e grande divergência do *P. gibertii*.

Tabela 4. Agrupamento de acordo com o método de otimização de Tocher, considerando-se 40 variáveis qualitativas avaliadas em 64 acessos de *Passiflora*.

Grupos	Acessos
I	BGP210 BGP351 BGP165 BGP341 BRSGA BGP223 BGP354 BRSOV BR SRubi BGP330 BGP221 BGP038 BGP031 BGP183 BGP184 BGP176 BGP222 BGP032 BGP340 BGP164 BGP037 BGP324 BGP228 BGP277 BRSSC BGP177 BGP336 BGP225 BGP224 BGP005 BGP345 BGP129 BGP064 BGP061 BGP020 BGP311 BGP182 BGP328 BGP051 BGP205 BGP123 BGP181 BGP185 BGP334 BGP200 BGP188 BGP051 BGP444
II	BGP417 BGP348 BGP292 BGP077 BGP300PA BGP268 BGP308
III	BGP237 BGP245 BGP238 BGP242
IV	BGP432 BGP379
V	BGP109 BGP170
VI	BGP008

A análise intergrupos (Tabela 5) revelou que os valores mais elevados de divergência (0,605) ocorreram entre os grupos formados pelos acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa* (grupo I) e acessos silvestres *P. galbana* e *P. malacophylla* (grupo V) e maior similaridade genética (0,375) entre as espécies silvestres *P. gibertii* (grupo VI) e *P. galbana* e *P. malacophylla* (grupo V). Com relação à distância intragrupo, o grupo I apresentou a menor distância (0,150) e a maior distância (0,279) intragrupo foi observada no grupo III (composto por acessos da espécie *P. setacea*). Possivelmente, o grupo I identificou pares de acessos mais similares quando comparado aos demais acessos de diferentes grupos.

Tabela 5. Distâncias médias intra e intergrupos estimadas pelo método de Otimização de Tocher com base na dissimilaridade entre os 64 acessos de maracujazeiro mediante a utilização de 40 características qualitativas.

Grupos	I	II	III	IV	V	VI
I	0,150	0,474	0,472	0,571	0,605	0,546
II		0,236	0,537	0,538	0,450	0,468
III			0,279	0,494	0,556	0,494
IV				0,175	0,400	0,500
V					-	0,375
VI						-

Para o estudo da diversidade genética por meio do método UPGMA, considerou-se o corte próximo a 0,40 de distância, com base no método de Mojena (1977), obtendo-se a formação de seis grupos (Figura 5 e 6). O dendrograma apresentou valor cofenético alto (0,95). Tal fato demonstra que os agrupamentos formados pelos acessos avaliados podem ser considerados seguros, já que indica ajuste entre a matriz de dissimilaridade e a representação gráfica. Nota-se que vários pares apresentaram a mesma estimativa de dissimilaridade, principalmente entre acessos da mesma espécie *P. edulis* f. *flavicarpa*. Provavelmente, este fato se deve a baixa eficiência dos descritores utilizados em distinguir indivíduos da mesma espécie (Figura 5).

Na matriz qualitativa, a dissimilaridade variou de 0,0 para os acessos, menos dissimilares, BGP351 e BGP210; BGP038 e BGP221; BRS Rubi do Cerrado e BRS Ouro Vermelho (*P. edulis* f. *flavicarpa*) e 0,531 para os pares de acessos, mais dissimilares, BGP222 (*P. edulis* f. *flavicarpa*) e BGP109 (*P. galbana*); BGP020 (*P. edulis* f. *flavicarpa*) e BGP109 (*P. galbana*).

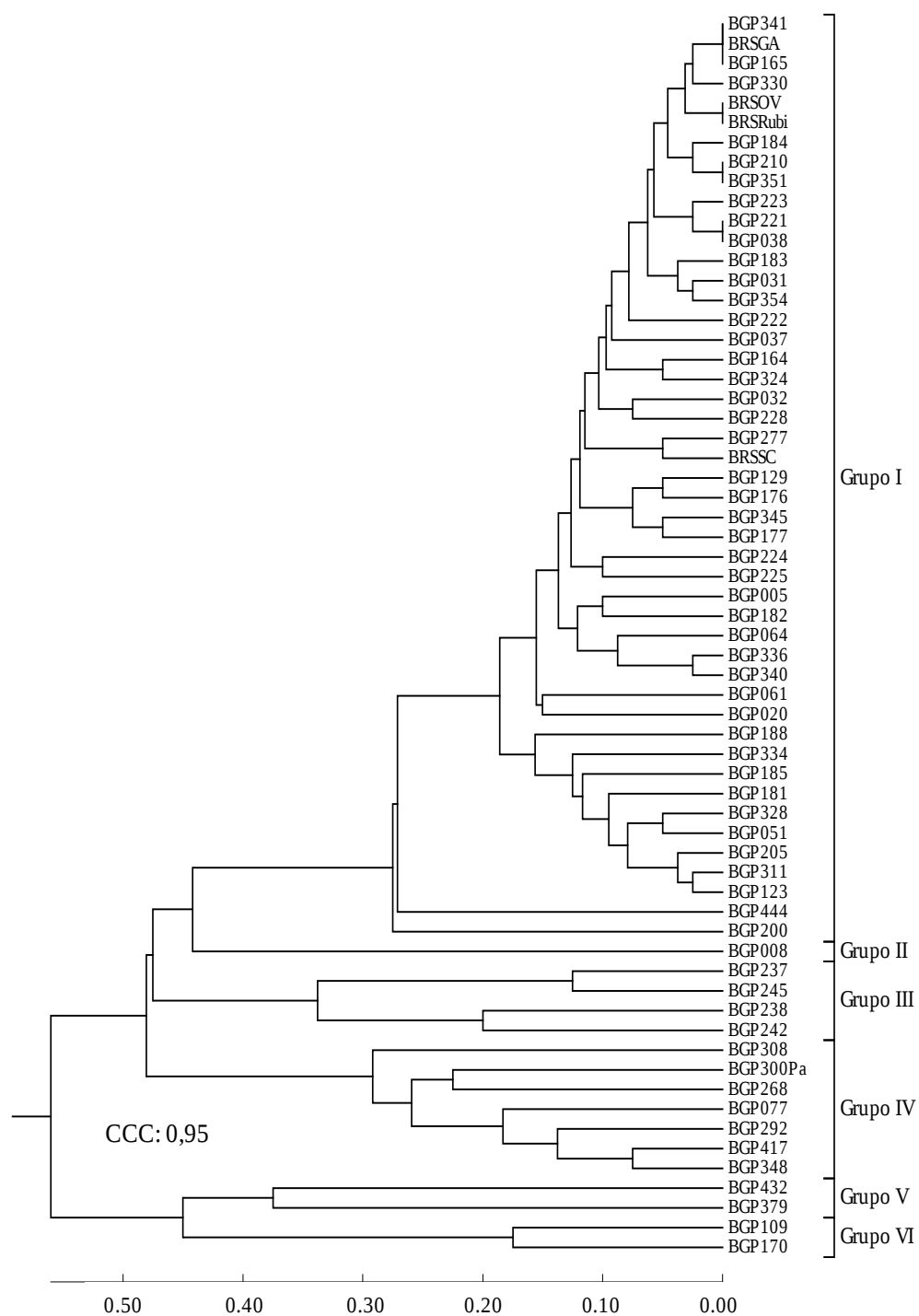


Figura 5. Dendrograma de dissimilaridade genética de 64 acessos de maracujazeiro, estabelecido pelo método do UPGMA, obtido a partir de 40 descritores qualitativos.

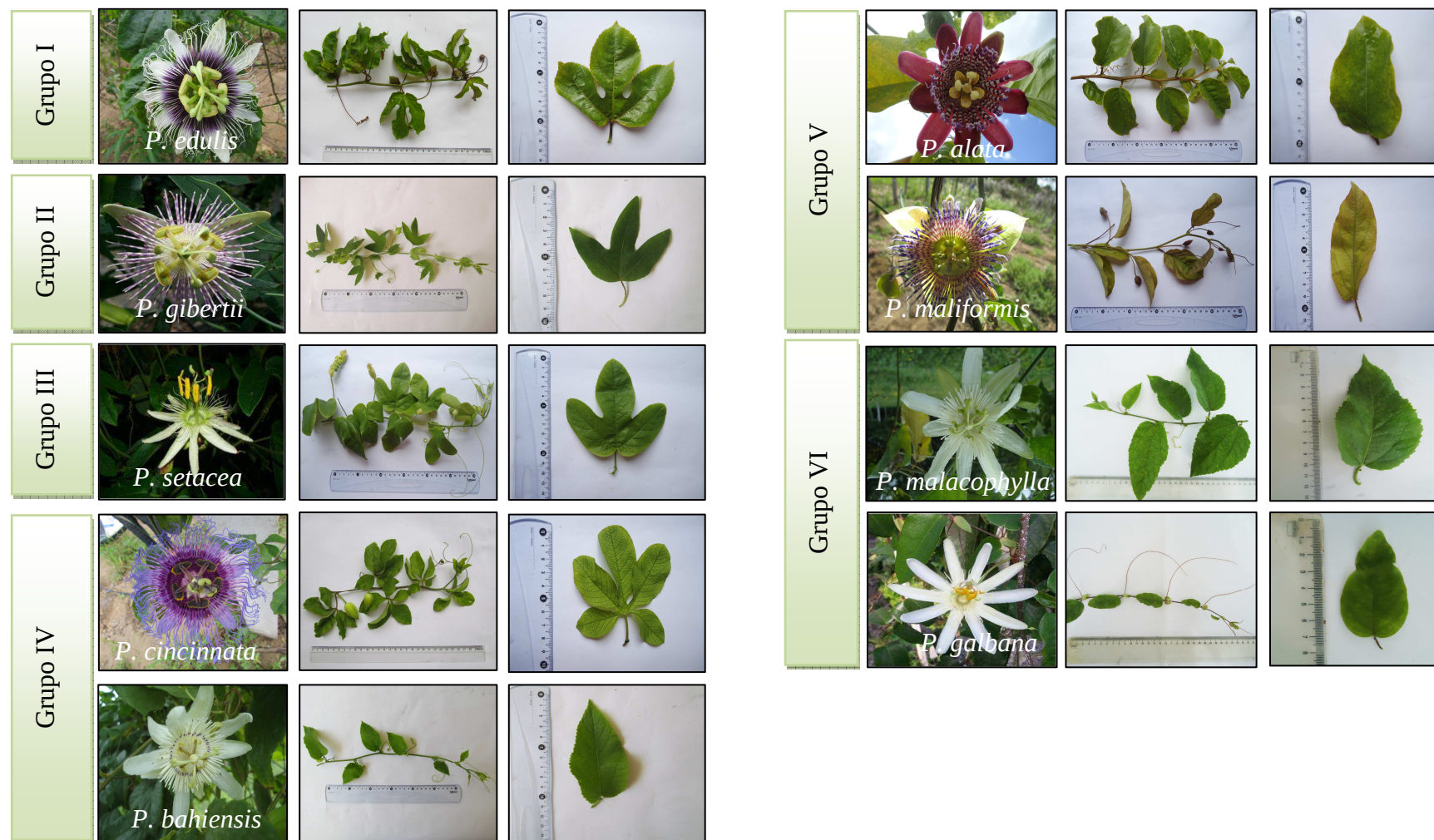


Figura 6. Padrão morfológico das espécies de *Passiflora* spp. de acordo com o agrupamento UPGMA (Figura 4). Fotos: Farias, D. da H.

O grupo I reuniu 48 acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa*. A presença de nectários na bráctea, folha fendida e trilobada, formato campanulado, ausência de coloração dos filamentos do opérculo, ausência de bandeamento nos filamentos mais longos da coroa e coloração branca predominante no perianto são alguns descritores qualitativos que caracterizam este grupo.

O grupo II foi constituído por *P. gibertii* (BGP008). Este grupo por ser o mais divergente e isolado se caracterizou pela posição marginal dos nectários e filamentos da coroa lisos.

O grupo III reuniu a espécie *P. setacea* (BGP242, BGP238, BGP245 e BGP237). Flores brancas, androginóforo alongado, antese noturna, filamentos mais longos da coroa lisos e a forma do hipanto campanulada são algumas das características que este grupo compartilha.

O grupo IV foi composto por seis acessos de *P. cincinnata* (BGP308, BGP300PA, BGP268, BGP077, BGP292 e BGP348) e um acesso de *P. bahiense* (BGP417). Este grupo se caracterizou basicamente por possuir flores com coloração roxa, coroa com coloração azul-arroxeadas, androginóforo curto, presença de bandeamento nos filamentos mais longos da coroa, poucos nectários e posição adjacente à inserção da folha no ramo.

O grupo V foi formado pelas espécies *P. maliformis* e *P. alata* (BGP379 e BGP432, respectivamente). Este grupo se caracterizou por possuir flores com coloração arroxeadas nos anéis da coroa, a ausência de filamentos no opérculo do nectário e o ovário amplo (comprido).

O grupo VI incorporou as espécies *P. malacophylla* e *P. galbana* (BGP170 e BGP109, respectivamente). Ausência de profundidade nos sinus, divisão simples do limbo foliar, flores brancas e filamentos mais longos da coroa são algumas das características que este grupo apresenta.

Empregando os métodos de agrupamento de Tocher e UPGMA, foi possível constatar a variabilidade genética existente entre as espécies de maracujazeiro do Banco de Germoplasma e verificar as semelhanças na distribuição dos grupos formados conforme as espécies. Entretanto, com o método UPGMA foi possível a visualização mais detalhada das distâncias existentes entre cada acesso em cada grupo e os acessos mais similares. A semelhança entre estas duas técnicas pode ser constatada pelo fato de os genótipos pertencentes aos grupos I, de Tocher, terem sido os mesmos dos

agrupamentos pelo UPGMA, e o acesso *P. gibertii* (BGP008) ter formado também o grupo isolado no método hierárquico (Tabela 4 e Figura 4). Segundo Gonçalves et al. (2014), o agrupamento UPGMA permite identificar acessos mais similares dentro dos grupos, quando comparado ao método de Tocher. Bertan et al. (2006) verificaram que os métodos UPGMA e Tocher foram concordantes na representação dos genótipos de trigo mais divergentes. Vários trabalhos também demonstram semelhança no agrupamento dos acessos entre a otimização de Tocher com o UPGMA (CAMPOS et al., 2010; LEÃO et al., 2011; PREISIGKE et al., 2013). Kvitschal (2008) estudando a caracterização e divergência genética de germoplasma de Mandioca, concluiu que a análise conjunta dos métodos Tocher e UPGMA permite uma melhor orientação na escolha dos acessos nos cruzamentos.

3.5 Matriz Geral dos descritores

A análise da matriz geral (qualitativos e quantitativos) agrupou os acessos de forma similar aos grupos obtidos com os descritores qualitativos (Figura 5), tal fato também observado pelo valor elevado da correlação entre as matrizes (Tabela 3). Foi considerado o corte próximo a 12,8 de distância, com base no método de Mojena (1977), obtendo-se a formação de seis grupos (Figura 7). Isso indica que os descritores qualitativos afetaram o perfil da distribuição dos acessos no dendrograma, interferindo, de forma determinante nos agrupamentos e na variabilidade observadas nos genótipos de maracujazeiro, devido a quantidade de descritores relacionados à caracterização da flor. Os acessos *P. galbana* (BGP109) e *P. edulis* f. *flavicarpa* (BGP038) apresentaram-se como os mais dissimilares (0,52) e os acessos *P. edulis* f. *flavicarpa* (BGP354 e BGP165) como os mais similares (0,01). No estudo realizado por Faleiro et al. (2005), os autores também verificaram altas distâncias genéticas entre acessos silvestres e os comerciais de maracujazeiro.

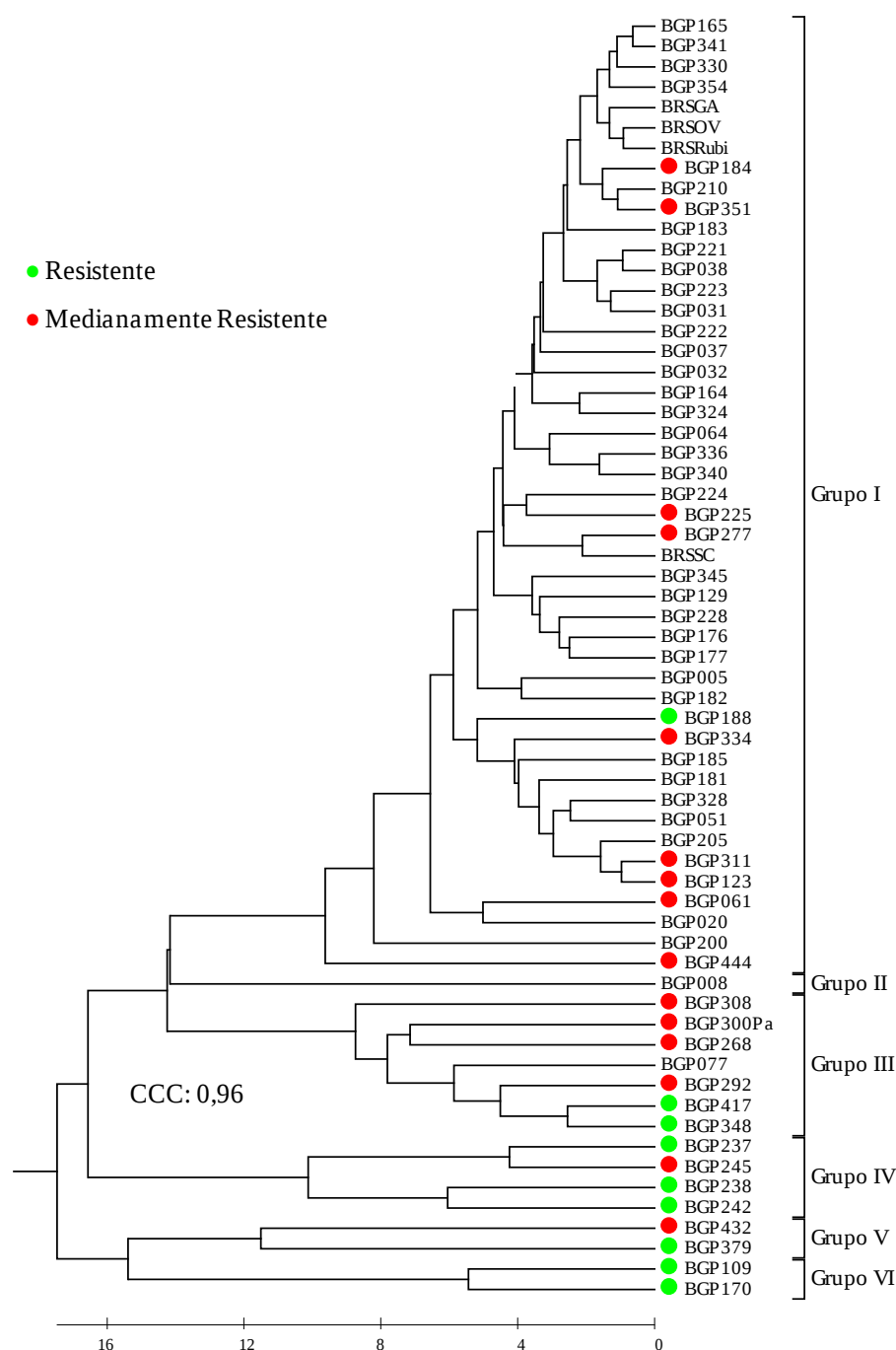


Figura 7. Dendrograma de dissimilaridade genética de 64 acessos de maracujazeiro, estabelecido pelo método do UPGMA, obtido a partir de 48 caracteres qualitativos e quantitativos. Os genótipos identificados com círculos cheios estão relacionados às informações da avaliação de virose (Figura 3). Círculos verdes são os acessos resistentes e ou tolerantes à virose (0% a 25,8% de severidade) e círculos em vermelhos são os acessos medianamente resistentes (29,1% a 39% de severidade).

De acordo com Rocha et al. (2010), a geração de diversas informações de diferentes conjuntos pode dificultar a compreensão dos resultados de caracterização e germoplasma. As análises geradas pelos descritores morfológicos demonstraram alta semelhança com a classificação botânica atualmente aceita para o gênero *Passiflora* (MACDOUGAL; FEUILLET, 2004). Assim, a análise conjunta de dados pode melhorar a geração das informações e indicar a variabilidade existente nas coleções.

Com base na matriz geral das características morfológicas, também foi possível verificar ampla dissimilaridade entre as espécies de *Passiflora* estudadas. As dissimilaridades entre os 47 acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa* variaram entre 0,013 e 0,30, sendo que a menor foi obtida entre os acessos BGP165 e BGP354 e a maior entre os acessos BGP444 e BGP334. No caso específico da espécie *P. edulis* f. *flavicarpa*, foi possível neste trabalho verificar que, mesmo dentro de uma única espécie de maracujazeiro, encontra-se expressiva variabilidade genética. Esta significativa variabilidade encontrada em *P. edulis* f. *flavicarpa*, pode ser atribuída à polinização cruzada, devido à autoincompatibilidade da espécie (SUASSUNA et al., 2003). Estudos realizados por Bellon et al. (2007), Santos et al. (2011) e Costa et al. (2012), relatam a alta variabilidade genética intraespecífica em acessos de *P. edulis*, com base em marcadores moleculares.

3.6 Análise discriminante de genótipos de *Passiflora*

Nas Tabelas 6, 7 e 8 estão apresentadas as classificações corretas e incorretas de cada espécie obtida mediante a análise discriminante de Anderson, considerando 40 variáveis qualitativas, oito características quantitativa e a soma (qualitativa + quantitativa). Para as variáveis qualitativas e soma, a taxa de erro aparente foi de 0% (Tabela 6 e 8) indicando que 100% dos genótipos foram classificados corretamente nas espécies previamente definidas. Para os caracteres quantitativos, observou-se que a espécie *P. setacea* obteve 100% de taxa de classificação correta, seguida de *P. edulis* f. *flavicarpa* com 98,1% e o *P. cincinnata* apresentou a menor taxa de classificação correta com 83,3% (Tabela 7). A maior taxa de erro aparente foi observada para os dados quantitativos com 3,17%, evidenciando que mesmo para este a classificação correta foi de 96,83%.

Tabela 6. Classificação correta (diagonal em negrito) e incorreta (acima e abaixo da diagonal) das espécies de maracujazeiro conforme a análise discriminante de Anderson (em %), considerando 40 descritores qualitativos.

Espécies	<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	<i>P. cincinnata</i>	<i>P. setacea</i>
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	100	0	0
<i>P. cincinnata</i>	0	100	0
<i>P. setacea</i>	0	0	100

Taxa de erro aparente: 0%

Tabela 7. Classificação correta e incorreta das espécies de maracujazeiro conforme a análise discriminante de Anderson (em %), considerando oito descritores quantitativos.

Espécies	<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	<i>P. cincinnata</i>	<i>P. setacea</i>
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	98,1	1,9	0
<i>P. cincinnata</i>	16,7	83,3	0
<i>P. setacea</i>	0	0	100

Taxa de erro aparente: 3,17%

Tabela 8. Classificação correta e incorreta das espécies de maracujazeiro conforme a análise discriminante de Anderson (em %), considerando todos os caracteres avaliados.

Espécies	<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	<i>P. cincinnata</i>	<i>P. setacea</i>
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	100	0	0
<i>P. cincinnata</i>	0	100	0
<i>P. setacea</i>	0	0	100

Taxa de erro aparente: 0%

Com base nas análises discriminantes de Anderson, verifica-se que as características morfológicas qualitativas e a conjunta (todos os caracteres) foram eficientes na classificação dos genótipos. Por outro lado, as oito características quantitativas não proporcionaram uma classificação completamente correta entre os genótipos avaliados. Sendo assim, se faz necessária a inclusão de mais variáveis quantitativas, a fim de reduzir o número de classificações incorretas dos indivíduos. Segundo Sudré et al. (2006), a função discriminante de Anderson apresenta um grande potencial para verificar a consistência do agrupamento, além de ser adequada na caracterização e manejo de bancos de germoplasma, revelando-se uma ferramenta

adicional para avaliar a correta classificação fornecida por métodos de análise multivariada utilizados. Costa et al. (2009) afirmam que a caracterização morfoagronômica foram essenciais na avaliação da diversidade genética da coleção de *Capsicum*. Este resultado corrobora com Carvalho (2014), que assegura que descritores morfológicos se mostraram importantes e complementares na geração de informações como na classificação de espécies. Portanto, o uso das variáveis qualitativas, permitem a caracterização eficiente de germoplasma de *Passiflora* spp.

De maneira geral, apesar da diversidade encontrada entre os acessos interessam aos melhoristas apenas os acessos superiores, em relação às características mais importantes, e que apresentem divergência para maximizar a heterose ou criar suficiente variabilidade nos ciclos de seleções. Os programas de melhoramento genético de maracujazeiro buscam uma cultivar cujo desempenho compreenda, além de outras características, alta produtividade e resistência à virose do endurecimento dos frutos. Os acessos considerados resistentes e medianamente resistentes ao CABMV, localizados em diferentes grupos na caracterização morfológica (Figura 6), podem ser utilizados através de hibridação interespecífica e intraespecífica visando obtenção de progênes com mais tolerância ou resistência à virose. Entretanto, para obter híbridos férteis torna-se necessário o conhecimento prévio da filogenia e homologia cromossômica entre as espécies utilizadas nos cruzamentos para que o processo de hibridação seja eficiente.

As espécies consideradas resistentes ao CABMV, *P. edulis* f. *flavicarpa* (BGP188) e os acessos silvestres *P. cincinnata* (BGP348), *P. setacea* (BGP237, BGP238 e BGP242), *P. galbana* (BGP109) podem ser empregadas em futuras hibridações interespecíficas (JESUS et al., 2014; AZEVEDO et al., 2011; SANTOS, et. al., 2015; JUNQUEIRA et al., 2008) além das espécies *P. bahiensis* (BGP417), *P. maliformis* (BGP379) e *P. malacophylla* (BGP170), com grande potencial sobre essa viabilidade, uma vez que todas as espécies citadas pertencem ao subgênero *Passiflora*, com cariótipos $2n=18$ cromossomos. Por outro lado, os cruzamentos intraespecíficos do acesso resistente (BGP188) entre os acessos medianamente resistentes (BGP184, BGP351, BGP225, BGP277, BGP334, BGP311, BGP123, BGP061 e BGP444) da espécie *P. edulis* f. *flavicarpa*, pode permitir a obtenção de populações em programa de retrocruzamento ou desenvolvimento de uma população base para seleção recorrente.

4. CONCLUSÕES

Os resultados com base na severidade para o CABMV permitem a identificação de genótipos com resistência/tolerância genética com destaque para os acessos BGP188 (*P. edulis* f. *flavicarpa*) e BGP 170 (*P. malacophylla*).

Os agrupamentos de Tocher e UPGMA indicam a existência de variabilidade genética entre as espécies avaliadas, apresentando grupos com acessos similares e mais dissimilares com potencial a serem utilizados em programas de melhoramento genético.

Os descritores, através da análise conjunta de dados, possibilitam um melhor ordenamento das espécies com detecção de variabilidade genética intraespecífica em genótipos de *P. edulis* f. *flavicarpa* e nas demais espécies silvestres do Banco de Germoplasma.

5. REFERÊNCIAS

- ABREU, S. P. M. **Desempenho agrônômico, características físico-químicas e reação a doenças em genótipos de maracujá-azedo cultivados no Distrito Federal**. Tese (Mestrado em Ciências Agrárias) - Brasília – DF, Universidade de Brasília, p.129, 2006.
- AMORIM, J. D. S.; SOUZA, M. M.; JOSÉ, A.; VIANA, C.; FREITAS, J. C. O. Selfcross and interspecific pollinations in *Passiflora capsularis* and *P. rubra*. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 34, p. 537-544, 2011.
- ANDERSON T. W. **An introduction to multivariate statistical analysis**. New York: John Wiley & Sons, p.345, 1958.
- AZEVEDO, T. P.; COELHO, M. S. E.; ARAÚJO, F. P.; MELO, N. F. Citogenética de parentais e híbridos interespecíficos de *Passiflora edulis* Sims x *Passiflora cincinnata* Mast.. In: **VI Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Semiárido**, 2011, Petrolina. Documentos (Embrapa Semi-Árido. Online). Petrolina: Embrapa Semiárido, p. 155-160, 2011.
- BELLON, G.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, K. P.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SANTOS, E. C.; BRAGA, M. F.; GUIMARÃES, C. T. Variabilidade genética de acessos comerciais e silvestres de *Passiflora edulis* Sims. com base em marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.29, n.1, p. 124-127. 2007.
- BERNACCI, L. C.; MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; PASSOS, I. R. S. Espécies de maracujá: caracterização e conservação da biodiversidade. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 559-586, 2005.
- BERTAN, I.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; VIEIRA, E. A.; HARTWING, I.; SILVA, J. A. G.; SHIMIDT, D. A. M.; VALÉRIO, I. P.; BUSATO, C. C.; RIBEIRO, G. Comparação de métodos de agrupamento na representação da distância morfológica entre genótipos de trigo. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.12, n.3, p 279-286, 2006.

CAMPOS, A. L.; ZACARIAS, A. J.; COSTA, D. L.; NEVES, L. G.; BARELLI, M. A. A.; SOBRINHO, S. P.; LUZ, P. B. Avaliação de acessos de mandioca do banco de germoplasma da UEMAT Cáceres – Mato Grosso. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, p. 44-54, 2010.

CARVALHO, S. I. C. **Estudos filogenéticos e de diversidade em *Capsicum* e sua aplicação na conservação e uso de recursos genéticos das espécies *C. frutescens* e *C. chinense***. 182 f. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

CAVICHIOLO J. C.; CORRÊA. L. S.; NARITA. N; KASAI. F. S. Incidência e severidade do vírus do endurecimento dos frutos em maracujazeiros enxertados em pé-franco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. especial, p. 411-414, 2011.

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. 200, p. 345–359, 2014.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; MOREIRA, C. N. ; FIGUEIRA, A. R. ; CORREA, R. X.; OLIVEIRA, A. C. Detection of a resistance gradient to *Passion fruit woodiness virus* and selection of yellow passion fruit plants under field conditions. **Genetics and Molecular Research**, v. 7, p. 1209-1216, 2008.

CORREA, M. F.; PINTO, A. P. C.; REZENDE, J. A. M.; HARAKAVA, R.; Mendes, B. M. J. Genetic transformation of sweet passion fruit (*Passiflora alata*) and reactions of the transgenic plants to Cowpea aphid borne mosaic virus. **European Journal of Plant Pathology**, v. 143, p. 813-821, 2015.

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

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.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2.ed. Viçosa: UFV, 2006. 585p.

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

CRUZ, C. D. 2001. **Aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: UFV. 648 p.

CONCEICÃO, L. D. H. C. S.; SOUZA, M. M.; BELO, G. O.; SANTOS, S. F.; FREITAS, J. C. O. Hybridization among wild passion flower species. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 34, p.237-240, 2011.

COSTA, F. R., PEREIRA, T. N. S., SUDRÉ, C. P., RODRIGUES, R. Marcadores RAPD e caracteres morfoagronômicos na determinação da diversidade genética entre acessos de pimentas e pimentões. **Ciência Rural**, v. 39, p. 696-704, 2009.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; BELLON, G.; PEIXOTO, J. R. Diversidade genética de variedades comerciais de maracujazeiro-azedo com base em marcadores RAPD. In: Reunião técnica de pesquisas em maracujazeiro, 4., Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p.105-109, 2005.

FERREIRA, F. R. Recursos genéticos de Passiflora. In: Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Braga, M.F. (Eds.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p.41-51, 2005.

FREITAS, J. C. O.; VIANA, A. P.; SANTOS, E. A.; SILVA, F. H. L.; PAIVA, C. L.; RODRIGUES, R.; SOUZA, M. M.; EIRAS, M. Genetic basis of the resistance of a passion fruit segregant population to *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). **Tropical Plant Pathology**, v. 40, p. 291-297, 2015.

GOMES, C. N. **Caracterização morfo-agronômica e diversidade genética em mandioca *Manihot esculenta* Crantz**. Lavras, MG: UFLA, 2007. 72p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras. 2007.

GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; KARASAWA, M.; SUDRÉ, C.P. Heirloom tomato gene bank: assessing genetic divergence based on morphological, agronomic and molecular data using Ward-modified location model. **Genetics and Molecular Research**, v.8, n.1, p.364-374, 2009.

GONÇALVES, D. L. ; AMBROZIO, V. C. ; BARELLI, M. A. A. ; NEVES, L. G. ; PAIVA SOBRINHO, S. ; LUZ, P. B. ; SILVA, C. R. . Divergência genética de acessos tradicionais de feijoeiros através de características da semente. **Bioscience Journal**, v. 30, p. 1671-1681, 2014.

GOWER, J. C. A general coefficient of similarity and some of its properties. **Biometrics**, v. 27, n. 4, p. 857-874, 1971.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Produção agrícola municipal: Culturas temporárias e permanentes. 2014. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/>> Acesso em: 19/01/2016.

JESUS, O. N.; SOARES, T. L.; OLIVEIRA, E. J.; SANTOS, T. C. P.; FARIAS, D. da H.; NOVAES, Q. S.; BRUCKNER, C. H. Evaluation of the morphologic, pollen viability and germination in progeny of the first backcross generation of passionfruit. In: INTERNATIONAL HORTICULTURAL CONGRESS, 2014, Brisbane. **Abstracts....** Brisbane: ISHS, v. 29, 2014.

JESUS, O. N. de.; MARTINS, C. A. D.; OLIVEIRA, E. J. de; SOARES, T. L.; MACHADO, C. de F.; FALEIRO, F. G.; GIRARDI, E. A.; ARAÚJO, F. P. de; PEREIRA, T. N. S.; VIANA, A. P. **Descritores morfoagronômicos ilustrados para *Passiflora* spp.** Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2013. 65 p. il.

JESUS, O. N.; FREITAS, J. P. X.; DANTAS, J. L. L.; OLIVEIRA, E. J.; OLIVEIRA, E. J. Use of morpho-agronomic traits and DNA profiling for classification of genetic diversity in papaya. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, p. 1-18, 2013.

JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T.V.; BELLON, G.; RAMOS J. D.; BRAGA, M. F.; SOUZA, L. S. Confirmação de híbridos interespecíficos artificiais no gênero passiflora por meio de marcadores. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, p.191-196, 2008.

KITAJIMA, E. W.; CHAGAS, C. M.; CRESTANI, O. A. Enfermidades de etiologia viral e associadas a organismos do tipo micoplasma em maracujazeiro no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 11, p. 409-432, 1986.

KOBAYASHI, K.; HORISAKI, A.; NIIKURA, S.; OHSAWA, R. Diallel analysis of floral morphology in radish (*Raphanus sativus* L.). **Euphytica**, v. 158, p. 153-165, 2007.

KVITSCHAL, M. V. **Caracterização e divergência genética de germoplasma de mandioca-de-mesa da região urbana de Maringá, Paraná. Maringá.** Tese – (Doutorado em Genética e Melhoramento). Pós-Graduação em genética e melhoramento, Universidade Estadual de Maringá. 2008.

LEÃO, P. C. de S.; MOTOIKE, S. Y. Genetic diversity in table grapes based on RAPD and microsatellite markers. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, p. 1035-1044, 2011.

LEÃO, R. M. K.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V.; REZENDE, R. O.; MATTOS, J. K. A.; MELO, B. Reação de progênies de maracujazeiro-azedo ao vírus do endurecimento do fruto (*Cowpea aphid-borne mosaic virus* - CABMV) em casa de vegetação. **Bioessence Journal**, v. 22, n. 2, p. 87-92, 2006.

LEDO, C. A. S.; TAVARES FILHO, L. F. Q.; OLIVEIRA, M. M.; SILVEIRA, T. C.; SANTOS A. S.; ALVES, A. A. C.; GONÇALVES, L. S. A. Análise de agrupamento utilizando variáveis quantitativas e qualitativas para o estudo da diversidade genética em genótipos de mandioca silvestre. In: XIII CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 2009, Botucatu. **Anais**. Botucatu: Campus Lageado, CERAT/UNESP, p. 591-595, 2009.

MACDOUGAL, J. M.; FEUILLET, C. Systematics. In: ULMER, T.; MACDOUGAL, J. M. *Passiflora: passionflowers of the world*. Portland, Timber Press. p. 27-31, 2004.

MACIEL, S. C.; NAKANO, D. H.; REZENDE, J. A. M. ; VIEIRA, M. L. C. Screening of *Passiflora* species for reaction to *Cowpea aphid-borne mosaic virus* reveals an immune wild species reveals an immune wild species. **Scientia Agricola**, v. 66, p. 414-418, 2009.

MARTINELLO, G. E; LEAL, N. R; AMARAL JÚNIOR, A. T; PEREIRA, M. G; DAHER, R. F. Divergência genética em acessos de quiabeiro com base em marcadores morfológicos. **Horticultura Brasileira**, v. 20, p. 52-58, 2002.

- MCKINNEY, H. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v. 26, p. 195-218, 1923.
- MOJENA, R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: An evaluation. **The Computer Journal**, v. 20, n. 4, p. 359-363, 1977.
- MOURA, M. C. L.; GONÇALVES, L. S. A.; SUDRÉ, C. P.; RODRIGUES, R.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; PEREIRA, T. N. S. Algoritmo de Gower na estimativa da divergência genética em germoplasma de pimenta. **Horticultura brasileira**, v. 28, n. 2, p.155- 161, 2010.
- NASCIMENTO, A. V. S.; SANTANA, E. N.; BRAZ, A. S. K.; ALFENAS, P. F.; PIO-RIBEIRO, G.; ANDRADE, G. P.; CARVALHO, M. G.; ZERBINI, F.M. *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) is widespread in passionfruit in Brazil and causes passionfruit woodiness disease. **Archives of Virology**, v.151, p.1797-1809, 2006.
- NASCIMENTO, A. V. S.; SOUZA, A. R. R.; ALFENAS, P. F.; ANDRADE, G. P.; CARVALHO, M. G.; PIO-RIBEIRO, G.; ZERBINI, F. M. Análise filogenética de potyvírus causando endurecimento dos frutos do maracujazeiro no Nordeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p. 378- 383, 2004.
- NOVAES, Q. S.; REZENDE, J. A. M. Possível aplicação do DAS-ELISA indireto na seleção de maracujazeiro tolerante ao *Passionfruit woodiness virus*. **Fitopatologia Brasileira**, n. 24, p. 76-79, 1999.
- OLIVEIRA, E. J.; SOARES, T. L.; BARBOSA, C. J.; SANTOS-FILHO, H. P.; JESUS, O. N. Severidade de doenças em maracujazeiro para identificação de fontes de resistência em condições de campo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, p. 485-492, 2013.
- PAIVA, C. L.; VIANA, A. P.; SANTOS, E. A.; SILVA, R. N. O.; OLIVEIRA, E. J. Diversidade genética de espécies do gênero *Passiflora* com o uso da estratégia Ward-MLM. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 381-390. 2014.
- PINTO, P. H. D.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V.; RESENDE, R. O.; MATTOS, J. K. A.; MELO, B. Reação de genótipos de maracujazeiro-azedo ao vírus

do endurecimento do fruto (*Cowpea aphid-borne mosaic virus* – CABMV). **Bioscience Journal**, v. 24, n. 2, p. 19-26, 2008.

PREISIGKE, S. C.; CAMPOS, A. L.; SOUZA, N. S.; NEVES, L. G.; BARELLI, M. A. A.; LUZ, P. B.; ARAÚJO, K. L.; SOBRINHO, S. P. Genetic divergence in mango and obtaining minimum efficient descriptors. **American Journal of Plant Sciences**, v. 4, n. 12, p. 2318-2322, 2013.

QUINTAL, S. S. R.; VIANA, A. P.; GONCALVES, L. S. A.; PEREIRA, M. G.; AMARAL, J. A. T. Divergência genética entre acessos de mamoeiro por meio de variáveis morfoagronômicas. **Semina. Ciências Agrárias**, v. 33, p. 131-142, 2012.

ROCHA, M. C.; GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; SILVA, P. R. A.; CARMO, M. G. F.; ABBOUD, A. C. S. Uso do algoritmo de Gower na determinação da divergência genética entre acessos de tomateiro do grupo cereja. **Acta Scientiarum.Agronomy**, v.32, n.3, p.423-431, 2010.

ROHLF, F. J. NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system. New York: Exeter Software, 2000. 38p.

SANTOS, E. A.; VIANA, A. P.; FREITAS, J. C. O.; SILVA, F. H. L.; RODRIGUES, R.; EIRAS, M. Resistance to *Cowpea aphid-borne mosaic virus* in species and hybrids of *Passiflora*: advances for the control of the passion fruit woodiness disease in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 143, p. 85-98, 2015.

SANTOS, E. A.; VIANA, A. P.; FREITAS, J. C. O.; SOUZA, M. M.; PAIVA, C. L.; RODRIGUES, D. L.; FERREIRA, R. T. Phenotyping of *Passiflora edulis*, *P. setacea*, and their hybrids by a multivariate approach. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, p. 9828, 2014.

SANTOS, E. A.; VIANA, A. P.; FREITAS, J. C. O.; RODRIGUES, D. L.; TAVARES, R. F.; PAIVA, C. L.; SOUZA, M. M. Genotype selection by REML/BLUP methodology in a segregating population from an interspecific *Passiflora* spp. crossing. **Euphytica**, v. 2, p. 1993, 2015.

SANTOS, L. F.; OLIVEIRA, E. J.; SILVA, A. S. ; CARVALHO, F. M.; COSTA, J. L.; PADUA, J. G. ISSR Markers as a Tool for the Assessment of Genetic Diversity in *Passiflora*. **Biochemical Genetics**, v.49, p. 540-554, 2011.

SIMKO, I.; PIEPHO, H. P. The area under the disease progress stairs: Calculation, advantage, and application. **Phytopathology**, v. 102, p. 381-389, 2012.

SOUSA, M. A. F. **Avaliação da produtividade, incidência e severidade de doenças em frutos de 17 genótipos de maracujazeiro-amarelo, cultivados no Distrito Federal**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Brasília - DF, Universidade de Brasília, 120p. 2005.

SUDRÉ, C. P.; GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; AMARAL JÚNIOR, A.T. DO; RIVA-SOUZA, E. M.; BENTO, C. S. Genetic variability in domesticated *Capsicum* spp. as assessed by morphological and agronomic data in mixed statistical analysis. **Genetics and Molecular Research**, v.9, p. 283-294, 2010.

SUASSUNA, T. D. F.; BRUCKNER, C. H.; CARVALHO, C. R.; BOREM, A. Self-incompatibility in passionfruit: evidence of gametophytic-sporophytic control. **Theoretical and Applied Genetics**, v.106, p.298-302, 2003.

VIANA, C. A. S. **Resistência de genótipos de maracujá-azedo à bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*) e à virose do endurecimento do fruto (*Cowpea aphid-borne mosaic virus*)**. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Brasília - DF, Universidade de Brasília, 230p. 2007.

VICENTE, M. C.; GUZMÁN, F. A.; ENGELS, J.; RAMANATHA, R. V. (2005). Genetic characterization and its use in decision making for the conservation of crop germplasm. p. 121-128. In: **The role of biotechnology for the characterisation and conservation of crop, forestry, animal and fishery genetic resources**, Turin, Italy. p.5-7 March. FAO, Rome, Italy.

CAPÍTULO II

AVALIAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DE FRUTOS NA ESTIMATIVA DA DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE *Passiflora* spp.

RESUMO

O gênero *Passiflora* se caracteriza por apresentar ampla diversidade genética e sua caracterização é de grande importância para o conhecimento da variabilidade existente em banco de germoplasma, visando exploração e a conservação de recursos genéticos em programas de melhoramento. Diante da necessidade de direcionar trabalhos para a identificação e seleção de genótipos superiores e ampliar a base genética da cultura do maracujazeiro, o objetivo deste trabalho foi estimar a diversidade genética de genótipos de maracujazeiro e comparar diferentes estratégias de análises baseadas em técnicas multivariadas com base em características físicas e químicas de frutos. Foram avaliados 63 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de *Passiflora*, pertencentes a oito espécies, sendo 48 acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa*, seis acessos de *P. cincinnata*, quatro acessos de *P. setacea*, um acesso das respectivas espécies *P. alata*, *P. gibertii*, *P. mallacophyla*, *P. bahiensis* e *P. maliformis*. As variáveis analisadas foram massa total do fruto, massa da polpa, massa da casca, comprimento longitudinal dos frutos, diâmetro equatorial dos frutos, espessura da casca, rendimento de suco, sólidos solúveis, acidez titulável, número de frutos acumulados por acesso e a coloração da polpa sem sementes. Para quantificar a divergência entre os acessos foi empregada a distância genética, com base no algoritmo de Gower, os métodos de agrupamento (UPGMA) e o de otimização Tocher, a análise multivariada de componentes principais, estimativas dos coeficientes de repetibilidade e a análise discriminante proposta por Anderson (1958). As técnicas multivariadas para estudo de diversidade genética demonstraram ter grande potencial de uso na caracterização de germoplasma de *Passiflora*. O agrupamento UPGMA indicou a existência de variabilidade genética entre os acessos avaliados, apresentando grupos com acessos mais dissimilares com potencial a serem utilizados em futuras etapas de seleção e cruzamentos de genótipos. Pela análise de componentes principais, as variáveis massa de casca, massa do fruto, diâmetro e comprimento de fruto contribuíram para a máxima variabilidade observada nos acessos de *Passiflora*. Para essas características cinco medições (frutos) são suficientes para predizer o valor real dos

indivíduos com 90% de acurácia. Os caracteres rendimento de suco e acidez titulável apresentam baixa repetibilidade, indicando cautela na seleção de genótipos com base nessas características.

Palavra chave: *Passiflora* spp, melhoramento genético, germoplasma.

CHAPTER II

PHYSICAL ASSESSMENT AND FRUIT OF CHEMISTRY IN ESTIMATE GENETIC DIVERSITY AMONG ACCESS *Passiflora* spp.

ABSTRACT

The genus *Passiflora* is characterized by presenting a wide genetic diversity. The characterization of this diversity is very important for understanding the variability of existing genotypes on germplasm bank because it allows the exploitation and conservation of genetic resources in breeding programs. Faced with the need to direct jobs to the identification and selection of superior genotypes and expand the genetic basis of passion fruit crop, this study aimed to estimate the genetic diversity of passion fruit genotypes and compare different strategies of analysis based on multivariate techniques based on features physical and chemical fruit. 63 genotypes of the Active Germplasm Bank of *Passiflora* were evaluated, belonging to eight species, and 48 genotypes of *P. edulis* f. *flavicarpa* six genotypes of *P. cincinnata*, four genotypes of *P. setacea*, a genotype of the respective species *P. alata*, *P. gibertii*, *P. mallacophyla*, *P. maliformis* and *P. bahiensis*. The total mass variables analyzed were the fruit, pulp mass, shell mass, longitudinal length of the fruit, equatorial diameter of the fruit, rind thickness, juice yield, total soluble solids, total acidity, number of fruits retained by access and the color of flesh seedless. To quantify the difference between genotypes was used genetic distance based on gower algorithm, the clustering methods (UPGMA) and the Tocher optimization, multivariate principal component analysis, estimates of the repeatability coefficient and discriminant analysis proposal by Anderson (1958). Multivariate techniques for genetic diversity study have demonstrated great potential for use in characterizing germplasm *Passiflora*. O UPGMA indicated the existence of genetic variability among accessions, with groups of more dissimilar hits with potential to be used in future steps selection and genotypes crossings. By principal component analysis, the variables mass bark, fruit weight, fruit diameter and length contributed to the maximum variability observed in *Passiflora* hits. For these five characteristics measurements (fruits) are sufficient to predict the actual value of individuals with 90%

accuracy. The characters juice yield and acidity have low repeatability, indicating caution in the selection of genotypes based on these characteristics.

Keyword: *Passiflora* spp, genetical enhancement, germplasm.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil vem se destacando como maior produtor mundial do maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg) com 823.284 toneladas, em uma área total cultivada de 56.825 hectares. A Região Nordeste tem liderado a produção brasileira com 70,9% seguida pelas Regiões Sudeste, Sul e Norte, Centro-Oeste. O estado da Bahia destaca-se como o maior produtor (381.192 toneladas), seguido pelos estados Ceará, Espírito Santo e Minas Gerais (IBGE, 2014).

O potencial produtivo do maracujazeiro é afetado pelas técnicas inadequadas de manejo, limitações tecnológicas de produção, recomendação equivocada de variedades de maracujá para diferentes solos e condições climáticas no país e, sobretudo ao ataque de pragas e doenças que afetam as características relacionadas aos frutos (CAMPOS et al., 2013 e OLIVEIRA et al., 2014).

A larga variabilidade genética encontrada no gênero *Passiflora*, disponíveis em bancos de germoplasma, é essencial para subsidiar programas de melhoramento do maracujazeiro, em busca de variedades superiores com boas características agrônômicas, resistentes a doenças e que atendam as principais demandas de cultivo (PAIVA et al., 2014). No entanto, para a exploração dessa variabilidade genética no gênero *Passiflora*, deve-se inicialmente caracterizar morfoagronomicamente os genótipos, a fim de identificar indivíduos promissores que possam ser utilizados em futuras etapas de melhoramento (MORALES et al., 2011; PAIVA et al., 2014; FREITAS et al., 2011).

A caracterização física e química de frutos e da discriminação de variáveis mais relevantes são de grande importância para o melhoramento genético, pois, identifica genótipos com parâmetros de interesse. Dentre as características dos frutos destacam-se os aspectos físicos como massa do fruto, cor da casca e tamanho, enquanto para o aspecto químico, as características estão relacionadas ao sabor como acidez e sólidos solúveis (OCAMPO et al., 2013; MANIWARA et al., 2014).

O uso de técnicas multivariadas permitem inferências sobre a variabilidade genética e a seleção eficiente de um conjunto de caracteres que ajudam a aumentar a eficácia dos programas de melhoramento. Entre as técnicas mais utilizadas destacam-se os métodos aglomerativos, a análise por componentes principais, a análise discriminante de Anderson e a análise de repetibilidade (CRUZ; CARNEIRO, 2006).

O método aglomerativo, de forma geral, obedece ao critério de similaridade ou dissimilaridade entre os indivíduos, estabelecendo grupos em que a homogeneidade é maior que aquela que existe entre os grupos. No melhoramento genético, os métodos propostos para análise de agrupamento mais utilizados são os hierárquicos e os de otimização de Tocher (CRUZ et al., 2004). A análise de componentes principais, cujo objetivo é identificar variáveis responsáveis pela maior divergência observada, permite a seleção de caracteres que influenciam na diferenciação dos genótipos avaliados (CRUZ; CARNEIRO, 2006).

A análise discriminante de Anderson tem por finalidade discriminar um ou mais indivíduos em populações já conhecidas e verificar a consistência de um determinado agrupamento, conforme descrito por Cruz e Carneiro (2003). Este método é importante no processo de melhoramento, pois, permite classificar novos materiais genéticos em populações já conhecidas.

A análise de repetibilidade, mensurada através do coeficiente de repetibilidade da variável desejada, tem como objetivo principal avaliar a capacidade de estabilidade da característica de um indivíduo. É importante o conhecimento desse coeficiente, pois reduz o tempo, a mão de obra e o custo das avaliações recorrentes que, frequentemente, requer vários experimentos e diversas avaliações em diferentes variáveis (CRUZ; REGAZZI, 2001; NEVES et al., 2010). Segundo Martuscello et al. (2007), altos valores do coeficiente de repetibilidade, permite prever o valor correto dos indivíduos com base em determinado número de medições.

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi estimar a diversidade genética entre os genótipos de maracujazeiro por meio de características físicas e químicas de frutos e indicar combinações para futuros trabalhos de melhoramento genético em *Passiflora*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de condução e genótipos avaliados

Foram avaliados 63 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de *Passiflora* (Tabela 2), pertencentes a oito espécies, sendo 48 acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa*, seis acessos de *P. cincinnata*, quatro acessos de *P. setacea*, um acesso de *P. alata*, *P. gibertii*, *P. mallacophyla*, *P. bahiensis* e *P. maliformis*. O ensaio foi montado no

Município de Cruz das Almas, BA (12°48'S e 39°6'W, a 220 m de altitude), de clima tropical quente e úmido. O espaçamento utilizado foi de 2,0 m entre linhas e de 3,0 m entre plantas. Utilizou-se o sistema de condução em espaldeira vertical, com um fio de arame liso nº 12, a 2 m de altura do solo. Todos os tratos culturais foram feitos conforme recomendação técnicas para a cultura. Os dados meteorológicos (umidade relativa, temperatura média, precipitação pluviométrica) durante o período de condução dos experimentos estão representados na Tabela 1.

Tabela 1. Dados meteorológicos da estação experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura no ano de 2014, Cruz das Almas, BA

Mês	Precipitação total (mm)	Temperatura média (°C)	Umidade relativa média (%)
Janeiro	32,3	25,3	79,4
Fevereiro	133,3	23,9	82,5
Março	76,1	25,2	84,2
Abril	76,2	25,2	83,1
Maio	174,1	23,4	87,0
Junho	81,2	22,5	89,0
Julho	219,7	21,9	89,5
Agosto	81,5	21,3	87,5
Setembro	88,6	22,1	85,7
Outubro	29,8	22,7	80,2
Novembro	38,5	24,2	81,6
Dezembro	58,1	24,9	80,5

Fonte: Estação meteorológica localizada na Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Tabela 2. Acessos de *Passiflora* spp. utilizados para avaliações físico-químicas de frutos.

Nº	Acesso BAG	Espécie	Procedência
1	BGP005	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Jaboticabal - SP
2	BGP008	<i>P. gibertii</i> N.E.Br.	Jaboticabal - SP
3	BGP020	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Jaboticabal - SP
4	BGP031	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Vitória da Conquista - BA
5	BGP032	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Maringá - PR
6	BGP037	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Santarém - PA
7	BGP038	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Santarém - PA
8	BGP051	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Janaúba - MG
9	BGP061	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Jaboticabal - SP
10	BGP064	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Conceição do Jacuípe - BA
11	BGP077	<i>P. cincinnata</i> Mast.	Andaraí - BA
12	BGP089	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Ibicoara - BA
13	BGP123	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Jaboticabal - SP
14	BGP129	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Jaboticabal - SP
15	BGP164	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Alagoinhas - BA
16	BGP165	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Alagoinhas - BA
17	BGP170	<i>P. mallacophyla</i> Mast.	-
18	BGP176	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Cruz das Almas - BA
19	BGP177	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Alcobaça - BA
20	BGP179	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Rio do Sul - SC
21	BGP181	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Piracicaba - SP
22	BGP182	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Piracicaba - SP
23	BGP183	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Piracicaba - SP
24	BGP184	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Piracicaba - SP
25	BGP185	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Piracicaba - SP
26	BGP188	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Piracicaba - SP
27	BGP200	<i>P. cincinnata</i> Mast.	Piracicaba - SP
28	BGP205	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Piracicaba - SP
29	BGP210	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Araguari - MG
30	BGP221	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Salvador - BA
31	BGP222	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Salvador - BA
32	BGP223	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Salvador - BA
33	BGP224	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Salvador - BA
34	BGP225	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Salvador - BA
35	BGP228	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Campinas - SP
36	BGP237	<i>P. setacea</i> DC.	Lagedinho - BA
37	BGP238	<i>P. setacea</i> DC.	Lagedinho - BA
38	BGP242	<i>P. setacea</i> DC.	Ibiquera - BA
39	BGP245	<i>P. setacea</i> DC.	Lagedinho - BA

(Continuação Tabela 2)

40	BGP268	<i>P. cincinnata</i> Mast.	Ruy Barbosa - BA
41	BGP277	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Ruy Barbosa/Utinga - BA
42	BGP292	<i>P. cincinnata</i> Mast.	Brotas de Macaúbas - BA
43	BGP308	<i>P. cincinnata</i> Mast.	Ibiquera - BA
44	BGP311	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Nova Viçosa - BA
45	BGP324	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Planaltina - DF
46	BGP328	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Planaltina - DF
47	BGP330	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Cruz das Almas - BA
48	BGP334	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Stº Antônio de Jesus - BA
49	BGP336	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Itamarajú - BA
50	BGP340	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Rio Real - BA
51	BGP341	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Itamarajú - BA
52	BGP345	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Rio Real - BA
53	BGP351	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Rio Real - BA
54	BGP354	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	Itiúba - BA
55	BGP379	<i>P. maliformis</i> L.	-
56	BGP417	<i>P. bahiensis</i> Klotzsch	-
57	BGP432	<i>P. alata</i> Curtis	-
58	BGP444	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	
59	BGP300Pa	<i>P. cincinnata</i> Mast.	Curralinho - BA
60	BRS Gigante Amarelo	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	-
61	BRS Ouro Vermelho	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	-
62	BRS Rubi do Cerrado	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	-
63	BRS Sol do Cerrado	<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg	-

Pa: semente de polinização aberta(meios irmãos)

2.2 Caracterização físicas e químicas de frutos de *Passiflora*

Os frutos, obtidos de polinização natural, foram colhidos durante o período de outubro de 2013 a março de 2014. Para cada acesso, foram avaliados seis frutos coletados aleatoriamente em dez plantas.

Foram avaliadas as seguintes características: massa total do fruto, massa da polpa, massa da casca, diâmetro longitudinal e equatorial dos frutos, espessura da casca, rendimento de suco, sólidos solúveis, acidez titulável, número de frutos acumulados por acesso e a coloração da polpa.

- ***Massa total do fruto - MF***

Os frutos coletados foram pesados individualmente com auxílio de balança semianalítica e leitura expressa em gramas (g). A massa média foi obtida pela soma da massa dos frutos e dividida pelo número total de frutos de cada parcela.

- ***Comprimento longitudinal dos frutos - CF***

O comprimento médio do fruto foi obtido pela medição total dos frutos, aferindo-se o eixo longitudinal de cada um com o uso de digital e a leitura expressa em centímetros (cm).

- ***Diâmetro equatorial dos frutos - DF***

O diâmetro médio foi alcançado pela medição dos frutos na região equatorial desses com o uso de paquímetro digital e a leitura expressa em centímetros (cm).

- ***Espessura da casca dos frutos – EC***

Aferiu-se a espessura da casca pela medição na porção mediana dos frutos, com o auxílio de paquímetro digital e leitura expressa em milímetros (mm).

- ***Massa da casca dos frutos - MC***

A massa da casca de cada fruto foi obtida em balança digital semianalítica e leitura expressa em gramas (g). Obteve-se a massa média da divisão da massa total da casca dos frutos, dividida pelo número total desses.

- ***Massa da polpa dos frutos - MP***

Foi obtida com base na massa da polpa sem sementes. O processo de extração da polpa foi realizado com auxílio de um mixer. Na lâmina do mixer foi colocada uma borracha de soro para evitar a quebra das sementes dos frutos. Em seguida, a massa da polpa de cada fruto foi obtida com auxílio de balança digital e leitura expressa em gramas (g). Obteve-se a massa média da divisão da massa total da polpa dos frutos, dividida pelo número total desses.

- ***Rendimento de suco - RE***

O rendimento de polpa (sem sementes) foi realizado para o valor da parcela de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Rendimento (\%)} = \text{Massa da polpa/massa total do fruto} \times 100$$

- ***Teor de sólidos solúveis – SS***

Obtido por meio da leitura de gotas de suco em refratômetro digital portátil RTA-50, (Instrutherm, Instrumentos de Medição, Ltda., São Paulo, SP) e resultados expressos em °Brix.

- ***Acidez titulável – AT***

Cinco mililitros do suco foram transferidos para erlenmeyers de 250 mL, completando-se o volume para 100 mL com água destilada. Foram adicionadas a essa solução uma gota de indicador fenolftaleína 1%, procedendo-se às titulações, sob agitação, com solução de NaOH 0,1 N, previamente padronizada com biftalato de potássio. Os resultados foram expressos em gramas de ácido cítrico por 100 g de suco.

- ***Número de frutos acumulado por planta – NF***

O número de frutos foi determinado dividindo-se a quantidade de frutos pelo número de plantas, para cada acesso.

- ***Coloração da polpa***

A coloração da polpa foi avaliada mediante leitura direta no suco, sem sementes. As leituras foram realizadas empregando-se um colorímetro Minolta CR-300. No padrão C.I.E. L* a* b*, a coordenada L* expressa o grau de luminosidade da cor medida (L* = 100 = branco; L* = 0 = preto). A coordenada a* expressa o grau de variação entre o vermelho e o verde (-a* = mais verde; +a* = mais vermelho) e a coordenada b* expressa o grau de variação entre o azul e o amarelo (-b* = mais azul; +b* = mais amarelo) conforme Minolta (1994).

2.3 Análises estatísticas

2.3.1 Análises multivariadas dos acessos

Para quantificar a divergência entre os acessos foi empregada dissimilaridade com base no algoritmo de Gower (1971). Com as medidas de dissimilaridade foi realizada a análise de agrupamento pelo método hierárquico *Unweighted Pair-Group Method Using an Arithmetic Average* (UPGMA). Para testar a eficiência do método de agrupamento hierárquico, estimou-se o coeficiente de correlação cofenética (CCC) segundo metodologia descrita por Sokal e Rolf (1962). O ponto de corte do dendrograma formado pelo método de UPGMA foi definido conforme o proposto por Mojena (1977). Além do método hierárquico UPGMA foi utilizando o método de otimização de Tocher (CRUZ et al., 2004).

Em acréscimo aos demais métodos multivariados, a análise de componentes principais foi empregada para detalhar mais as informações de diversidade entre os acessos. Segundo Cruz et al. (2004), este método se caracteriza por apresentar a importância das funções de forma decrescente, sendo que a função inicial expressa o máximo da variância entre os grupos de acessos formados. Ainda assim, a importância relativa dos caracteres físicos e químicos foi avaliada para discriminar os acessos segundo o critério de peso das variáveis nos autovetores e autovalores estimados a partir da matriz de correlação dos dados padronizados. Em seguida, a divergência foi visualizada também através da projeção das distâncias em gráfico no espaço tridimensional.

A Análise Discriminante de Anderson (1958) foi realizada com os acessos que apresentaram repetições de espécies, sendo: 48 acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa*, seis acessos de *P. cincinnata* e quatro acessos de *P. setacea*.

2.3.2 Correlações fenotípicas entre os caracteres avaliados

Foram estimados os coeficientes de correlação de Pearson entre os caracteres, cuja significância de seus coeficientes foram avaliadas pelo teste t de Student, a 1% e 5% de probabilidade.

2.3.3 Análise de repetibilidade

Para alcançar o coeficiente de repetibilidade, foram utilizados quatro métodos (Tabela 3) descritos a seguir: 1) análise de variância (ANOVA) para cada caráter descrito e estimado os componentes de variância associados aos efeitos genético e residual; 2) e 3) componentes principais, com base tanto na matriz de correlações (CPCOR), como na matriz de covariâncias (CPCOV) entre cada par de medições, avaliadas nos diferentes acessos, segundo o método de Abeywardena (1972); 4) análise estrutural, com base na matriz de correlações entre os acessos em cada par de avaliação, conforme metodologia proposta por Mansour et al. (1981).

Tabela 3. Processos de estimação do coeficiente de repetibilidade (r) e seus respectivos estimadores.

Métodos de estimação	Estimador ⁽¹⁾
Análise de variância na qual o efeito temporário é removido do erro (ANOVA)	$\frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_y^2}$
Componentes principais obtidos da matriz de variâncias e covariâncias fenotípicas (CPCOV)	$\frac{\hat{\lambda}_1 - \hat{\sigma}_y^2}{\hat{\sigma}_y^2(n - 1)}$
Componentes principais obtidos da matriz de correlação (CPCOR)	$\frac{\hat{\lambda} - 1}{\eta - 1}$
Análise estrutural com base no autovalor teórico da matriz de correlação (R) ou correlação média (AECOR)	$\frac{(\hat{\alpha}'\hat{R}\hat{\alpha} - 1)}{\eta - 1}$

⁽¹⁾ $\hat{\sigma}_y^2 = \hat{\sigma}^2 + \hat{\sigma}_g^2$; $\hat{\sigma}_y^2$: variância fenotípica; $\hat{\sigma}^2$: variância ambiental; $\hat{\sigma}_g^2$: variância genotípica; $\hat{\lambda}_1$: autovalor da matriz de covariância ($\hat{\Gamma}$) ou da matriz de correlação ($\hat{R}$), associado ao autovetor, cujos elementos têm o mesmo sinal e magnitudes semelhantes; $\hat{\alpha}$: autovetor associado ao maior autovalor de ($\hat{R}$); η : número de medições.

No método de análise de variância, o coeficiente de repetibilidade foi estimado por meio dos resultados da análise de variância, segundo o modelo descrito por Cruz et al, (2004):

$$Y_{ij} = \mu + g_i + a_j + e_{ij}$$

Y_{ij} = caráter do i-ésimo acesso, no j-ésimo fruto de medição;

μ = média geral;

g_i = efeito aleatório do i-ésimo acesso;

a_j = efeito da j-ésima mediação (j = 1,..., 6 frutos);

e_{ij} = erro experimental associado ao caráter.

O coeficiente de repetibilidade foi estimado por:

$$r = \frac{C\hat{v}(\gamma_{ij}, \gamma_{ij'})}{\sqrt{\hat{V}(\gamma_{ij})\hat{V}(\gamma_{ij'})}} = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_y^2} = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}^2 + \hat{\sigma}_g^2}$$

Sendo que: Y_{ij} e $Y_{ij'}$: são as diferentes medições realizadas no acesso.

Para cada característica, o número mínimo de medições necessárias para prever o valor real dos genótipos, com base em um coeficiente de determinação (R^2) preestabelecido (0,85, 0,90 e 0,95), foi calculado seguindo a metodologia de Cruz et al. (2004):

$$n_0 = \frac{R^2(1 - \hat{r})}{(1 - R^2)\hat{r}}$$

η_0 = número de medições para predição do valor real;

R^2 = coeficiente de determinação;

r = coeficiente de repetibilidade obtido de acordo com um dos diferentes métodos utilizados.

Para cada característica, com base na média das η medições e na estimação dos coeficientes de repetibilidade obtidos de acordo com um dos métodos utilizados, foi calculado o coeficiente de determinação (R^2) estimado por:

$$R^2 = \frac{nr}{1 + r(n - 1)}$$

2.3.4 Programas estatísticos

O programa estatístico GENES (CRUZ, 2013) foi utilizado para análise da distância genética, para a estimação do coeficiente de correlação cofenética, repetibilidade e para a análise discriminante de Anderson. Os agrupamentos hierárquicos foram feitos com o auxílio do programa MEGA versão 5 (KUMAR et al., 2009), e a dispersão gráfica, pelo método da Análise das Coordenadas Principais (PCA), utilizando o programa R (R Development Core Team, 2006).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias dos acessos, em relação às espécies de *Passiflora*, para as características massa do fruto (MF), comprimento do fruto (CF), diâmetro do fruto (DF), espessura da casca (EC), massa da casca (MC), massa da polpa (MP), acidez titulável (AT), teor de sólidos solúveis (SS), rendimento de polpa (RE), luminosidade (L) e parâmetros de cor (a^* e b^*) estão apresentadas na Tabela 4. A *P. edulis* f. *flavicarpa* (maracujazeiro amarelo) e *P. alata* foram às espécies que apresentaram maiores valores para MF, CF, DF, EC, MC e SS. Entretanto, *P. alata* proporcionou baixos valores para MP (12,80g) e RE (5,5%). Entre as demais espécies silvestres, *P. cincinnata* e *P. maliformis* se destacaram por apresentar elevados valores para MF, CF, DF, EC e MC, sendo que *P. cincinnata* ainda apresentou valores elevados para MP (27,4g) e RE (27,8%). O *P. gibertii* se destacou por apresentar frutos com menores EC (0,7mm), MP (1,8g), RE (1,6%) e AT (0,5g). Para a coloração do suco, o parâmetro L, que corresponde à luminosidade, a *P. setacea* apresentou o maior valor numérico (70,0) indicando suco com coloração mais clara. Entretanto para os valores de a^* , a *P. gibertii* se destacou por apresentar suco com maior intensidade de vermelho, com valor de 6,5. Já para a variável b^* , suco de *P. edulis* f. *flavicarpa* tende mais para a coloração amarela, com valor de 30,1.

As médias para MF, CF, DF, EC, MC, MP, AT, SS e RE em função dos intervalos de classe para MF dos 59 acessos com repetições para as espécies, *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. cincinnata* e *P. setacea*, estão representadas na Figura 1. Esta relação é importante, já que a massa de fruto é uma característica interessante para o melhoramento genético desde que esteja associado a outros caracteres. Os acessos

avaliados apresentaram média 156,2g para massa do fruto, variando de 10,4g para o acesso BGP349 (*P. cinnamomum*) e 302g para o acesso BRSRubi do Cerrado (*P. edulis* f. *flavicarpa*) (Figura 1a). Dos 59 genótipos, 23 (38,98%) apresentaram MF variando de 192,65g a 302,00g, com destaque para cinco acessos (8,47%) o BGP038, BRS Ouro Vermelho, BRS Gigante Amarelo, BGP177 e BRS Rubi do Cerrado, que se destacaram por apresentar MF variando de 265,55 a 302,00g (Figura 1a) e massa média de 280,10g (Figura 1b). Os acessos que se destacaram, para as maiores classes de massa de frutos (192,65 a 302,00g), também apresentaram as maiores médias para MP e MC (Figura 1b) e CF, DF e EC (Figura 1c). No entanto, para os caracteres AT, SS e RE não foram observados relação linear entre os intervalos de massa de fruto e esses caracteres. No entanto, as menores massas de fruto (10,40 a 46,85) com média de 35,62g representadas pelas espécies *P. cinnamomum* (BGP349) e *P. setacea* (BGP237, BGP238, BGP245 e BG242) apresentaram também as menores médias para a MC com 14,04g, MP com 11,97g, EC com 2,25mm, CF com 4,73cm, DF com 3,66cm, AT com 0,81 e RE com 11,25% (Figura 1b,c). Os aspectos externos e internos dos frutos estão na Figura 2.

Segundo Ferreira et al. (2010), massa de fruto, comprimento de fruto e diâmetro equatorial do fruto são atributos importantes para o desenvolvimento de genótipos superiores que atendam ao mercado *in natura*. De acordo com Cavichioli et al. (2008), os consumidores selecionam frutos de maracujá amarelo acima de 170g. O teor de sólidos solúveis indica a quantidade de açúcares diluída no suco, sendo, portanto, um padrão relevante de qualidade (SILVA et al., 2002). Já o teor de acidez é um parâmetro bastante utilizado no processamento da fruta destinado à indústria de suco, pois reduz o uso de ácidos alimentícios, compostos bastante utilizados para inibir o crescimento microbológico no suco (PINTO et al., 2003; FLORES et al., 2011). Assim, frutos destinados a indústrias de processamento, devem apresentar elevado teor de sólidos solúveis (12,0 a 14,0 °Brix) e alta acidez (4,0 a 5,0 g de ácido cítrico 100 mL⁻¹) (KRAUSE et al., 2012). Neste caso, os acessos com MF variando de 119,75 a 302g enquadram nesta categoria. Já para o rendimento de suco do maracujá amarelo para a industrialização, Farias (2007) indica que a rendimento deverá estar entre 33 a 40 %. No presente estudo os valores de rendimento de suco com base na massa da casca variaram de 11,25 a 29,06%. É importante destacar que os valores apresentados refere-se à média geral dos genótipos que se enquadram em determinada faixa de MF.

Tabela 4. Espécies de Passiflora com médias da caracterização físico-química de frutos.

Espécies	Características										Cor do polpa		
	MF (g)	CF (cm)	DF (cm)	EC (mm)	MC (g)	MP (g)	RE (%)	SS (°Brix)	AT (g/100g)	NF			
											L*	a*	b*
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	186,5	8,6	7,7	7,2	100,3	50,1	25,5	13,2	4,0	40,9	49,6	3,9	30,1
<i>P. cincinnata</i>	94,6	5,6	5,7	4,3	34,7	27,4	27,8	7,4	3,7	35,6	58,6	-3,5	19,7
<i>P. alata</i>	191,3	9,3	7,9	14,0	160,3	12,8	5,5	18,5	1,6	7,0	38,6	1,6	19,8
<i>P. gibertii</i>	12,3	4,5	3,6	0,7	5,0	1,8	1,6	8,5	0,5	155,1	49,3	6,5	29,8
<i>P. mallacophyla</i>	17,7	3,8	3,8	3,9	9,2	4,9	27,5	8,5	1,3	148,0	59,5	-4,1	16,6
<i>P. maliformis</i>	61,9	6,0	5,9	4,4	43,9	5,9	3,2	6,0	0,6	9,3	67,8	-3,0	27,7
<i>P. bahiensis</i>	10,4	2,9	3,0	1,1	4,1	3,7	11,7	4,3	1,0	53,0	65,1	-3,7	20,3
<i>P. setacea</i>	41,9	5,2	3,8	2,5	16,5	14,0	11,1	5,4	0,8	22,7	70,0	-1,1	24,8

Massa do fruto (MF), comprimento de frutos (CF), diâmetro de frutos (DF), espessura da casca (EC), massa da casca (MC), massa da polpa (MP), rendimento de polpa (RE), sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), número total de frutos acumulados (NF), L*: luminosidade, a* e b*: índices de cor da polpa.

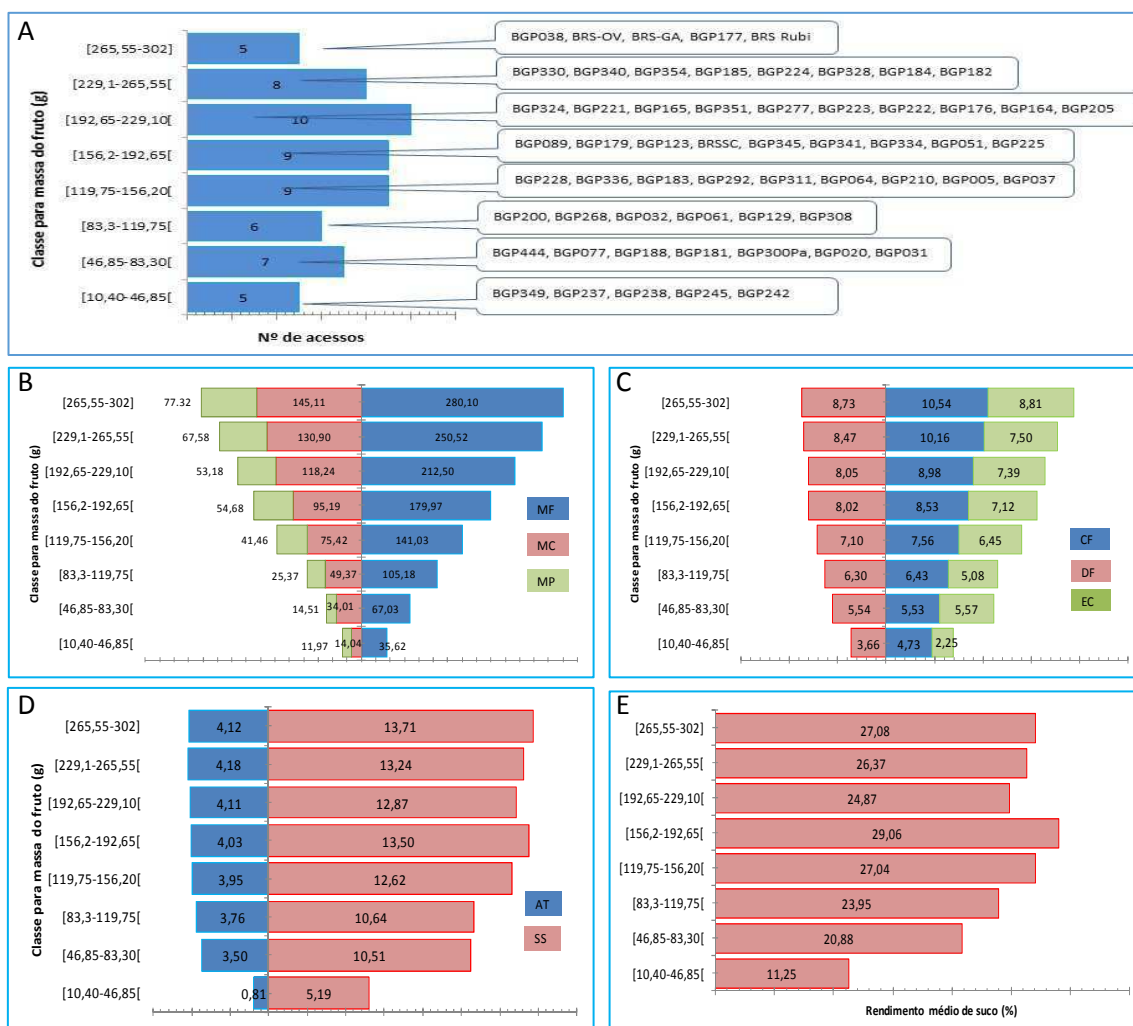


Figura 1. Dados físicos e químicos dos frutos para os acessos caracterizados no banco de germoplasma de maracujazeiro. Quantidade de acessos por classe de massa de fruto (A); massa média dos frutos (MF), da casca (MC) e da polpa (MP) em função das classes de massa de fruto (B); comprimento (CF), diâmetro (DF) e espessura da casca (EC) em função das classes de massa de fruto (C); acidez titulável (AT) e sólido solúvel (SS) em função das classes de massa de fruto (D) e rendimento de suco (%) em função das classes de massa de fruto (E). Balões ilustram os acessos que compõem cada classe de massa de frutos.

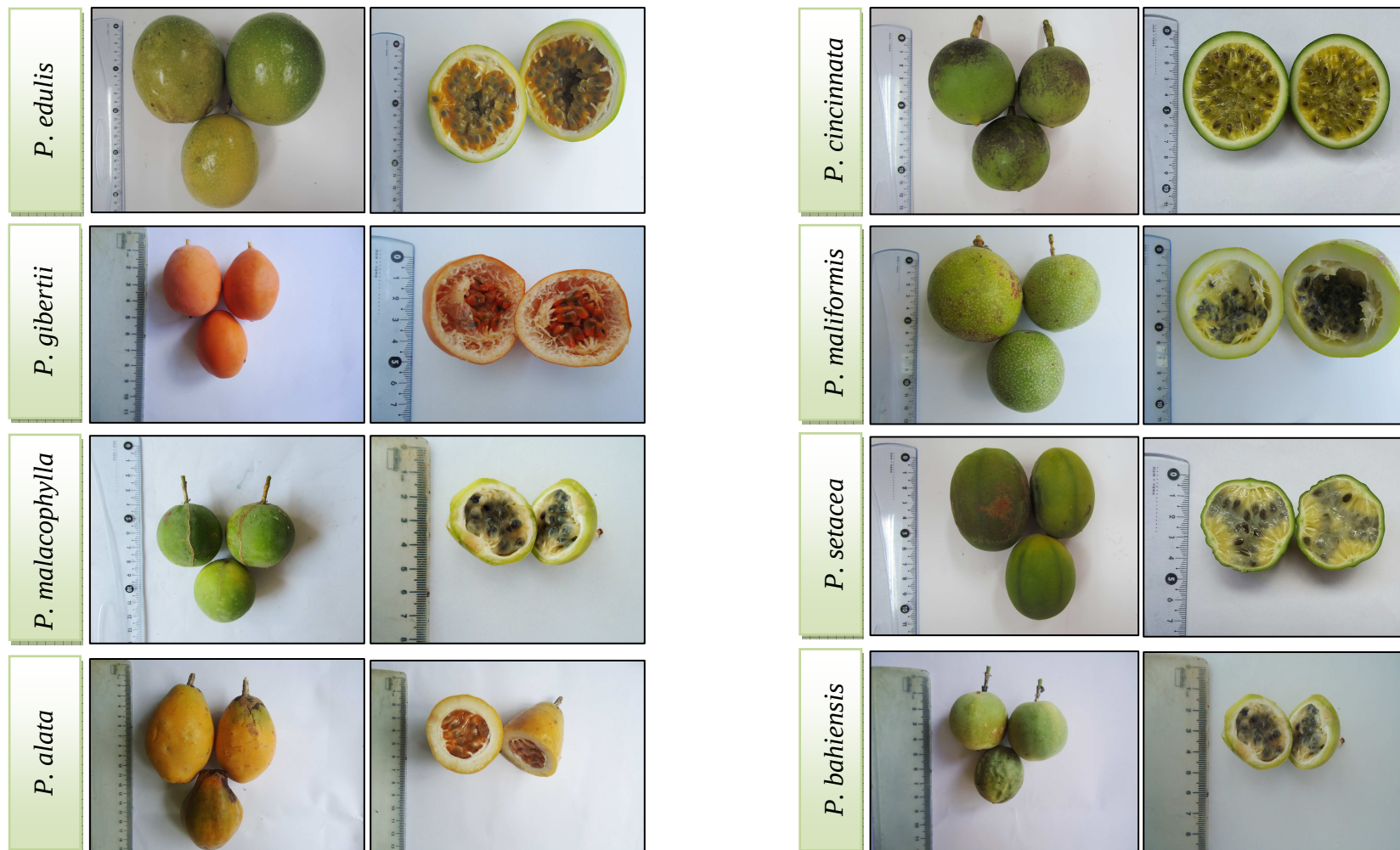


Figura 2. Aspecto externo e interno dos frutos das oito espécies de *Passiflora* spp. Fotos: Farias, D. da H.

O agrupamento de Tocher dos acessos de maracujazeiro está demonstrado na Tabela 5. O uso desse método se faz necessário em programas de melhoramento, quando não se tem referências dos indivíduos a serem avaliados. Esse método identifica o par de acessos mais similares e forma o grupo inicial. Assim, a inclusão de novos indivíduos no grupo segue o critério do limite de distância média intragrupo menor que a distância média intergrupo (CRUZ; CARNEIRO, 2006). Verifica-se a formação de cinco grupos, sendo que o grupo I reuniu 23,8% do total de acessos sendo: todos os acessos de *P. setacea* e *P. cincinnata*, dois acessos (4,2%) *P. edulis* f. *flavicarpa* e um acesso referente às espécies *P. bahiensis*, *P. maliformis* e *P. malacophylla*. Os grupos II e III foram formados exclusivamente por acessos da espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* sendo 87,5% e 8,3%, respectivamente. Os grupos IV e V foram formados pelo acesso de *P. gibertii* (1,58%) e *P. alata* (1,58%).

Tabela 5. Agrupamento de acordo com o método de otimização de Tocher, considerando-se 13 variáveis físicas e químicas de frutos de Passiflora.

Grupos	Acessos
I	BGP238 BGP245 BGP237 BGP242 BGP417 BGP379 BGP077 BGP300Pa BGP444 BGP170 BGP200 BGP268 BGP308 BGP292 BGP031
II	BGP176 BGP351 BGP205 BGP340 BGP224 BGP223 BGP330 BGP038 BRSOV BGP328 BGP185 BGP184 BRSGA BGP165 BRSSC BGP345 BGP051 BGP164 BGP341 BGP225 BGP324 BGP334 BGP221 BGP222 BGP354 BGP005 BGP182 BGP277 BGP210 BGP089 BGP179 BGP064 BGP311 BGP336 BGP037 BGP228 BGP183 BGP032 BGP177 BR SRubi BGP123 BGP129
III	BGP020 BGP181 BGP188 BGP061
IV	BGP008
V	BGP432

A análise intergrupos revelou que a maior distância de 0,519 foi verificada entre acesso silvestre *P. gibertii* (Grupo IV) e *P. alata* (Grupo V) (Tabela 6). A menor distância (0,272) foi entre os acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa* do Grupo II e do Grupo

III. Com relação à distância intragrupo, o grupo II apresenta a menor com 0,145 e a maior foi do grupo I com 0,190. Entretanto, para o grupo IV e V não foi possível estimar as distâncias intragrupos, por ser constituído por um único acesso.

Tabela 6. Distâncias médias intra e intergrupos estimadas pelo método de Otimização de Tocher com base na dissimilaridade entre os 63 acessos de maracujazeiro mediante a utilização de 13 características físico-químicas de frutos.

Grupos	I	II	III	IV	V
I	0,190	0,379	0,273	0,305	0,454
II		0,145	0,272	0,492	0,308
III			0,176	0,309	0,394
IV				-	0,519
V					-

A análise de cluster com base no índice de Gower e agrupamento por UPGMA apresentou coeficiente de correlação cofenética de 0,83 com formação de sete grupos (Figura 3a) considerando a linha de corte próximo a 0,21 (Mojema, 1977). A dissimilaridade média foi de 0,254, sendo os acessos BGP237 e BGP242, ambos da espécie *P. setacea*, os menos dissimilares (0,043) e os mais distantes (0,67) foram BGP417 (*P. bahiensis*) e BGP 177 (*P. edulis* f. *flavicarpa*).

O grupo I foi maior com 34 (70,8%) acessos sendo todos da espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* incluindo os híbridos comerciais BRS Gigante Amarelo, BRS Sol do Cerrado, BRS Rubi do Cerrado e BRS Ouro Vermelho. Este grupo possui predominantemente frutos alongados, grandes e pesados com valores médios para massa de fruto em torno de 218,90g. O preenchimento da cavidade interna do fruto resulta em rendimento de polpa alcançando valores máximos de 35%. A casca é espessa com média de 7,53mm. O teor de sólidos solúveis variou de 11-16 °Brix, acidez total titulável de 4,16 e valores positivos para a* (3,96) e b* (29,9), indicando que a tendência da cor da polpa desses genótipos está entre o vermelho e o amarelo (Figuras 1 e 2).

O grupo II também foi formado por 13 (27,1%) acessos da espécie *P. edulis* f. *flavicarpa*. Esses acessos apresentaram frutos menores e mais leves e arredondados. Apresenta também o maior número de fruto (62) em comparação aos acessos do grupo I

com média de 34 frutos. Os acessos do grupo II podem ser utilizados em cruzamento com o grupo I visando aumentar o número de frutos por planta e preservando as características relevantes como maior massa de fruto, maior comprimento e diâmetro do fruto e maior rendimento de suco. O grupo I e II apresentaram amplitude de variação de dissimilaridade similar, sendo que para o grupo I a dissimilaridade média foi 0,130, variando de 0,049 (BGP351 e BGP176) a 0,297 (BRS Rubi do Cerrado e BGP064) e média foi de 0,141 variando de 0,065 (BGP037 e BGP183) a 0,274 (BGP020 e BGP061) para o grupo II (Figura 3b).

O grupo III foi formado apenas pelo acesso *P. alata* (BGP432) e se destaca por apresentar maiores valores para comprimento de fruto (9,25cm), espessura de casca (13,9mm), massa de casca (160,3g) e °Brix (18,5). Apresenta também os menores valores para rendimento de polpa (5,5%) e número de fruto acumulado (7,0). Com relação a cor da polpa o *P. alata* apresentou menores valores de L*(38,59) e b* (19,80), o que indica frutos com polpa mais escura e pouco amarelada.

O grupo IV foi formado apenas pelo acesso *P. gibertii* (BGP008). Este acesso se destaca por apresentar os menos valores para massa de fruto (12,3g), casca muito fina (espessura 0,74mm), massa de polpa (1,8g), rendimento de polpa (1,6%) e acidez total titulável (0,5). Por outro lado, apresenta o maior número de fruto acumulado (155) e o maior valor para a*, indicando a tendência para uma polpa mais avermelhada.

O grupo V foi composto pelas espécies *P. setacea* (BGP242, BGP238, BGP245 e BGP237), *P. maliformis* (BGP379), *P. bahiensis* (BGP417). Este grupo possui, em média, os menores valores para sólidos solúveis totais (5,33 °Brix) e acidez total titulável (0,77). Entretanto possui o maior valor para luminosidade (68,81) da polpa, caracterizando-se polpa mais clara por estarem próximos ao branco puro.

O grupo VI foi composto pela espécie *P. malacophylla* (BGP170). Essa espécie se caracteriza por frutos pequenos, menos pesados (17,6g), arredondados e casca fina (espessura 3,9mm). Apresenta também os menores valores para a* (-4,12) e b* (16,63), indicando a tendência da cor da polpa para a intensidade verde-azulada e luminosidade clara (59,4).

O grupo VII reuniu todos os acessos da espécie *P. cincinnata* (BGP292, BGP308, BGP200, BGP268, BGP300Pa e BGP077) e um acesso (2,1%) de *P. edulis* f. *flavicarpa* (BGP444). Esses acessos se caracterizam por apresentar frutos achatados, casca fina (espessura 4,4mm), rendimento de polpa (27%) em consequência de a cavidade interna ser bastante preenchida. Apresenta cor da polpa clara (L* 57,4) e tende

para o verde-azulado (a^* -3,3 e b^* 18,9). O agrupamento do acesso BGP444 está relacionado às características físicas dos frutos que são semelhantes ao dos acessos de *P.cinnata*.

Para verificar a consistência dos agrupamentos dos acessos provenientes da análise de cluster, foi utilizada a análise discriminante de Anderson. Apenas os grupos I e II, ambos *P. edulis* f. *flavicarpa*, ocorreu uma classificação incorreta com taxa de erro aparente de 1,69% para o acesso BGP064 que pertencia ao grupo I e segundo a análise a melhor alocação seria no grupo II, embora esses dois grupos pertençam ao grande agrupamento de acessos de *P.edulis* f. *flavicarpa*.

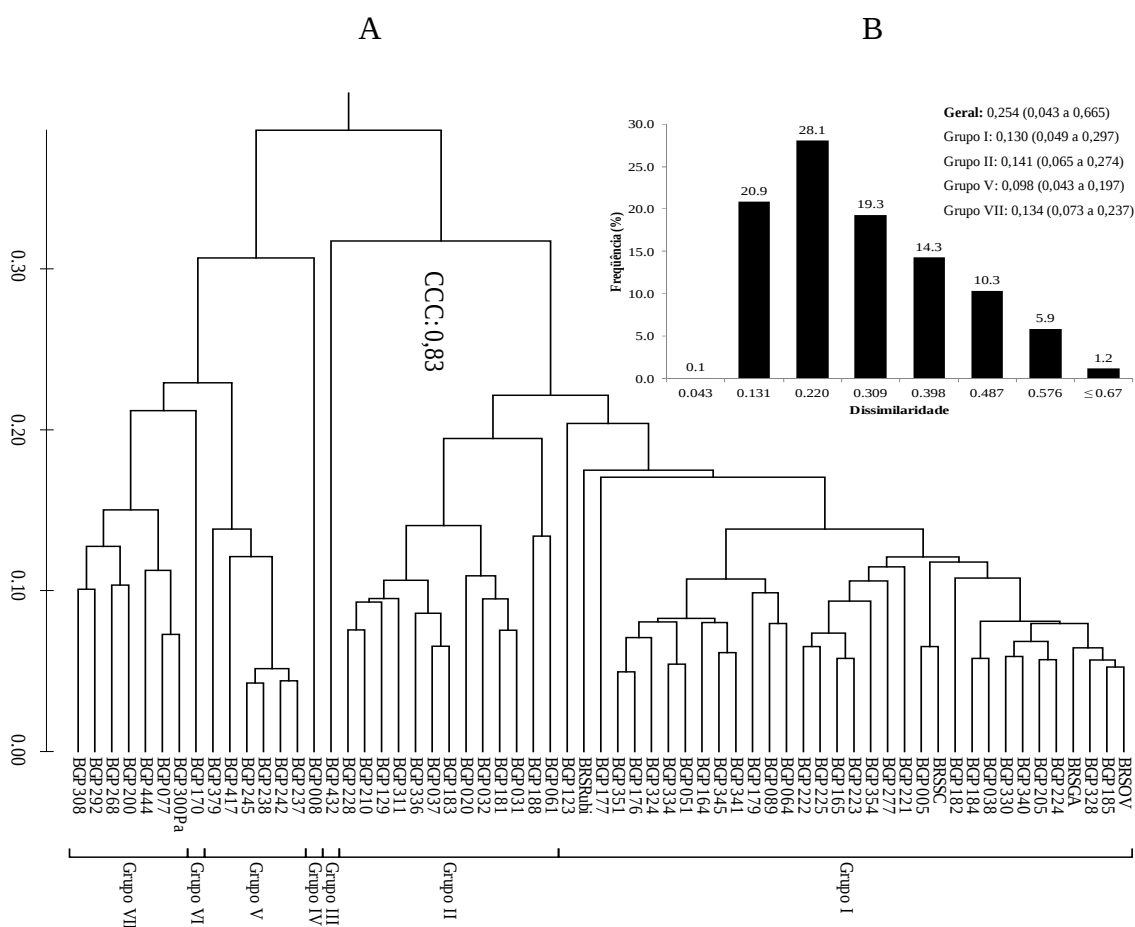


Figura 3. A) Dendrograma de dissimilaridade genética entre os genótipos de maracujá obtido com base na matriz da distância de Gower e agrupamento UPGMA. B) Frequência de distribuição das distâncias dos acessos de *Passiflora*.

A análise discriminante de Anderson quando feita apenas nas principais espécies avaliadas para as características dos frutos, mostrou que as espécies avaliadas foram classificadas corretamente nas espécies previamente definidas (Tabela 7). Segundo

Sudré et al. (2010), a função discriminante de Anderson apresenta um grande potencial para caracterização e manejo de germoplasma, revelando-se uma ferramenta adicional para avaliar a correta classificação fornecida por métodos de análise multivariada utilizados.

Tabela 7. Classificação correta e incorreta das espécies de maracujazeiro conforme a análise discriminante de Anderson (em %), considerando caracteres físico-químicos de frutos.

Espécies	<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	<i>P. cincinnata</i>	<i>P. setacea</i>
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	100	0	0
<i>P. cincinnata</i>	0	100	0
<i>P. setacea</i>	0	0	100

Taxa de erro aparente: 0%

A dispersão dos acessos e dos caracteres físicos e químicos de frutos foi visualizada graficamente, a fim de compará-las ao agrupamento de Tocher e UPGMA, e avaliar a influência de cada característica na análise de diversidade entre os acessos. Na análise de dispersão, observou-se que os três primeiros componentes explicaram 81,4% da variância total acumulada. O primeiro componente (CP1) foi responsável por 59,32%, o segundo (CP2) por 13,28% e terceiro (CP3) por 8,8% (Figura 4a). Assim, os três primeiros componentes foram utilizados para a formação do gráfico de dispersão tridimensional, pois os mesmos explicam mais de 80% da variância contida no conjunto de dados das variáveis (CRUZ et al., 2004). De maneira geral, a análise complementar da dispersão gráfica da diversidade genética dos genótipos de *Passiflora*, foi mais semelhante ao agrupamento UPGMA, pois em relação aos acessos mais dissimilares, observou-se que o BGP008 (grupo IV) e o BGP170 (grupo VI), foram observados como mais distante dos demais acessos (Figura 3a e 3b).

As características que mais influenciaram para a determinação da divergência genética dos acessos estão representadas na Figura 4b e Tabela 8. Foram necessários três componentes principais para explicar 81,40% (contribuição acumulada) da variabilidade observada, onde os dois primeiros componentes foram responsáveis por 72,61% desta variação. Para Cruz e Carneiro (2006), autovetores de elevado valor, associados a autovalores responsáveis por 80% da variação explicada, referem-se aos caracteres de maior contribuição para a variância obtida. Dessa forma, os descritores DF, CF, MF, MC e MP em CP1; b* em CP2; e L* em CP3, corresponderam às

variáveis que mais contribuíram para a variabilidade observada. No entanto, baseado no princípio de que a variância decresce do primeiro ao último componente, os descritores DF, CF, MF, MC e MP (CP1) podem ser considerados como os mais informativos para a variação registrada. Percentual próximo ao observado neste trabalho foi registrado por Quintal (2009) que obteve valores de 81,62% da variância total em descritores morfoagronômicos de mamoeiro (*Carica papaya* L.). Silva et al. (2012) caracterizando genótipos de mangueiras, obtiveram variância total nos três primeiros componentes, valores de 83,5% e 84,6% para as características físicas e químicas de frutos. Castro et al. (2012) caracterizando acessos de maracujazeiro através de descritores morfoagronômicos, alcançaram 67,17% de variância total nos três primeiros componentes. Esses mesmos autores destacaram que os descritores MC, MF, NF, MP e DF são importantes para caracterização e avaliação do germoplasma de maracujazeiro amarelo. Segundo Barros (1991) e Pereira et al. (1992), a variância se concentra nos primeiros componentes, apenas quando se avaliam poucas variáveis de interesse agrônomo.

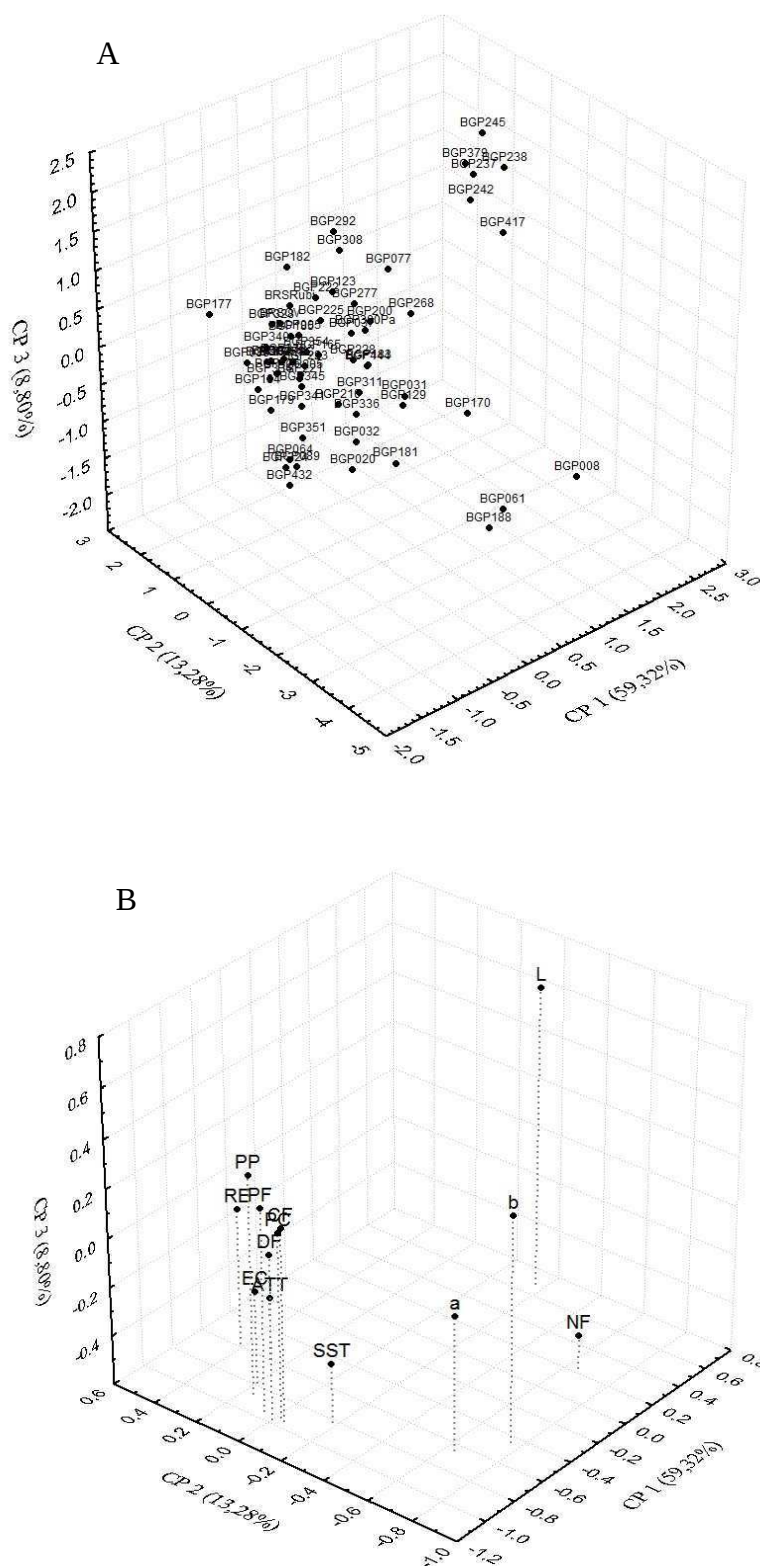


Figura 1. Dispersão gráfica tridimensional dos 63 acessos de *Passiflora* (A) com base nos caracteres físicos e químicos de frutos. (B) Contribuição das variáveis para os componentes principais.

Os resultados de diversidade permitem inferir sobre a variabilidade genética existente entre os grupos formados e que essas informações poderão contribuir e orientar em futuras estratégias de melhoramento, uma vez que existem dentro de grupos acessos mais similares e entre os grupos acessos dissimilares que permitem a exploração da heterose por meio de cruzamento de genótipos em grupos distintos ou pertencentes ao mesmo grupo, desde que apresente variabilidade suficiente. A existência de diversidade genética entre acessos é devida, principalmente, ao sistema de autoincompatibilidade que favorece a polinização cruzada e o fluxo gênico entre os diferentes genótipos (GANGA et al., 2004). O estudo da diversidade genética é uma etapa importante no processo de seleção de indivíduos em programas de melhoramento, pois permite identificar acessos com características essenciais e que apresentem divergência suficiente para gerar variabilidade nas gerações seguintes, com economia de tempo e mão de obra. Porém, Xavier et al. (1996) recomendam evitar cruzamentos entre indivíduos similares para que a variabilidade não seja limitada, restringindo características desejáveis a serem obtidas na seleção.

A exploração desta variabilidade pode se dar através da exploração de vigor híbrido, cruzando acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa* do grupo I, com médias superiores para as principais características de interesse agrônomo como frutos alongados, grandes e pesados, rendimento de polpa, °Brix e acidez, com grupo II (*P. edulis* f. *flavicarpa*) ou mesmo gerando uma população híbrida visando conduzir por ciclo de seleção e recombinação para aumentar a frequência dos alelos favoráveis. Além deste tipo de cruzamento, o programa pode desenvolver híbridos interespecíficos com as espécies silvestres *P. cincinnata* (AZEVEDO et al., 2011; JESUS et al., 2014) e *P. setacea* (FALEIRO et al., 2007; SANTOS et al., 2014; SANTOS et al., 2015) que apresentam vários relatos de resistência à doenças foliares e à fusariose (JUNQUEIRA et al., 2005; FISCHER et al., 2010; SILVA et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2013; SANTOS et al., 2015).

As estratégias de seleção em maracujazeiro amarelo, variáveis como peso de frutos, devem ser acompanhadas pelo maior rendimento de polpa, dimensões e formato mais ovalado do fruto, além de maior número de frutos por planta, a fim de obter alelos de interesse da população e garantir maior produtividade (OLIVEIRA et al., 2008). Sousa et al. (2012) em estudo de diversidade genética em acessos de *Passiflora*, recomendaram cruzamentos entre *P. edulis* (fruto grande) com *P. edulis* (Casca-de-ovo), e *P. edulis* f. *flavicarpa* com a geração resultante do cruzamento entre *P. kenia* x

P. edulis, pois constituem boas opções para obtenção de populações segregantes, com altos teores de sólidos solúveis, peso, tamanho e diâmetro de fruto. Viana et al. (2006) estudaram a diversidade genética em populações de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* e concluíram que, os acessos provenientes das regiões de Itaperuna e Campos dos Goytacazes apresentaram maior potencial para serem utilizados como genitores em programas de melhoramento genético. Preisigke et al. (2015) ao avaliarem a resistência de espécies de *Passiflora* ao *Fusarium solani*, recomendaram cruzamentos com a espécie *P. nitida*.

Tabela 8. Estimativas dos autovalores, autovetores e contribuição relativa e acumulada (%) associados aos 13 componentes principais e obtidas para os 13 caracteres físicas e químicas dos frutos de 63 genótipos de maracujazeiro. Valores em negrito destacam a característica de maior peso no respectivo autovetor.

Variáveis	CP 1	CP 2	CP 3	CP 4	CP 5	CP 6	CP 7	CP 8	CP 9	CP 10	CP 11	CP 12	CP 13
MF	0,339	-0,041	0,215	-0,035	0,289	0,057	0,068	-0,122	0,040	0,042	-0,225	-0,278	-0,774
CF	0,342	0,034	0,179	-0,077	0,221	0,104	-0,027	-0,190	0,155	0,039	-0,592	-0,204	0,574
DF	0,350	0,003	0,072	0,009	0,000	-0,034	0,184	-0,176	-0,011	-0,704	-0,001	0,557	-0,024
EC	0,282	-0,152	-0,205	-0,404	-0,022	-0,433	0,193	0,616	-0,193	0,075	-0,202	0,052	0,007
MC	0,336	0,014	0,146	-0,188	0,270	-0,034	0,174	0,003	0,067	-0,081	0,719	-0,377	0,235
MP	0,312	-0,123	0,276	0,236	0,262	0,084	-0,271	0,119	-0,178	0,501	0,166	0,529	0,051
RE	0,209	-0,320	-0,037	0,634	-0,127	-0,181	-0,358	0,262	-0,026	-0,306	-0,012	-0,330	0,040
SS	0,295	0,137	-0,333	-0,131	-0,198	-0,432	-0,394	-0,338	0,462	0,182	0,095	0,092	-0,079
AT	0,276	-0,107	-0,217	0,388	-0,341	0,131	0,668	-0,084	0,167	0,316	0,011	0,012	0,021
NF	-0,083	0,492	-0,430	0,365	0,608	-0,183	0,136	0,086	-0,017	-0,028	-0,044	0,036	0,011
L*	-0,247	0,127	0,583	0,148	0,000	-0,392	0,192	0,251	0,546	0,010	-0,032	0,092	-0,007
a*	0,235	0,484	-0,046	-0,055	-0,219	0,537	-0,188	0,493	0,282	-0,080	0,018	0,009	-0,068
b*	0,160	0,578	0,301	0,107	-0,370	-0,278	0,013	-0,141	-0,530	0,066	-0,015	-0,136	0,012
Autovetor	7,71	1,73	1,14	1,03	0,44	0,33	0,26	0,14	0,07	0,05	0,04	0,03	0,02
Var. total (%)	59,32	13,28	8,80	7,95	3,38	2,56	2,01	1,05	0,57	0,40	0,29	0,24	0,14
Var. total acumulada (%)	59,32	72,61	81,40	89,35	92,74	95,30	97,31	98,36	98,93	99,33	99,62	99,86	100

Massa do fruto (MF), comprimento de frutos (CF), diâmetro de frutos (DF), espessura da casca (EC), massa da casca (MC), massa da polpa (MP), rendimento de polpa (RE), sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), número total de frutos acumulados (NF), L*: luminosidade, a* e b*: índices de cor da polpa.

Além da diversidade genética, as estimativas de correlações permitem predizer o desempenho de uma característica quando se realiza a seleção em outra correlacionada (OLIVEIRA et al., 2011). Para explicar as relações entre os caracteres de importância econômica, as estimativas de correlações devem ser consideradas satisfatórias (GRECO et al., 2014). A massa de fruto se destacou por apresentar correlações significativas com a maioria das variáveis estudadas, além disso, mostrou-se altamente correlacionado com o comprimento de fruto (0,97), massa de casca (0,95) e diâmetro do fruto (0,93) (Tabela 9). Morgado et al. (2010) também encontraram correlações altas e positivas entre a massa do fruto e o comprimento e diâmetro dos frutos de maracujá azedo.

A massa da casca foi altamente correlacionada com o comprimento de fruto (0,94), diâmetro de fruto (0,92), espessura da casca (0,77) e massa de polpa (0,82), que por sua vez foi altamente correlacionada com o rendimento de suco (0,71). Estas correlações já eram esperadas, pois indicam que genótipos com maiores massas de frutos tendem a ter frutos maiores e consequentemente apresentam maior massa de casca. Oliveira et al. (2011) e Silva et al. (2009) observaram que a massa dos frutos apresentou correlação positiva com diâmetro, massa e espessura de casca e massa de polpa. Entretanto, a correlação entre a espessura de casca e rendimento de suco foi baixa (0,31). Frutos com casca mais espessa é interessante para o mercado de frutos de mesa, pois impede lesões causadas pelo transporte no fruto (KRAUSE et al., 2012).

A característica comprimento do fruto apresentou alta correlação com diâmetro do fruto (0,93), massa da casca (0,94) e da polpa (0,87), enquanto para a característica diâmetro do fruto apresentou correlações com massa da casca (0,92) e da polpa (0,84), indicando que a seleção de frutos com maior comprimento possibilita a obtenção de fruto com maior massa de casca. Este resultado corrobora com estudo realizado por Albuquerque et al. (2002) que também encontraram correlações entre os caracteres rendimento de suco e massa da polpa, assim como o diâmetro e o comprimento do fruto.

As maiores correlações associadas ao descritor rendimento de suco (sem sementes) foram com as características massa de polpa (0,71), diâmetro de fruto (0,55) e massa de fruto (0,50). Segundo Sousa et al. (2012), na seleção direta de genótipos de maracujazeiro estas características são as mais relevantes. O rendimento de polpa também obteve maior correlação com acidez total titulável (0,70) que por sua vez se correlacionou negativamente com a luminosidade (-0,61), demonstrando que quanto maior o rendimento de polpa, maior a concentração de ácido cítrico no suco e polpa mais escura.

A correlação entre SS e AT foi significativa (0,58). Isso pode ser explicado devido à presença dos ácidos presentes no suco, provavelmente participem de uma significativa percentagem dos sólidos solúveis, sendo esta associação responsável pelo sabor dos frutos. O valor de sólidos solúveis é dado pelo total de açúcar, sais e ácidos dissolvidos na polpa da fruta, principalmente açúcares e ácidos (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Os teores de sólidos solúveis obtiveram a maior correlação com a^* (0,60) que por outro lado se correlacionou negativamente com a luminosidade (-0,40), evidenciando que quanto maiores os teores de sólidos solúveis, mais vermelha e escura tende ser a polpa. Além disso, houve correlação positiva de intensidade forte da cor vermelha da polpa a^* (0,72) com maior quantidade de amarelo b^* . São José (1994) relata que frutos de maracujazeiro com destino para a indústria devem apresentar polpa com coloração alaranjada.

Tabela 9. Coeficientes de correlação fenotípica entre os caracteres dos frutos em genótipos de maracujazeiro: massa do fruto (MF), comprimento de frutos (CF), diâmetro de frutos (DF), espessura da casca (EC), massa da casca (MC), massa da polpa (MP), rendimento de polpa (RE), sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), número total de frutos acumulados (NF), L*: luminosidade, a* e b*: índices de cor da polpa.

Variáveis	MF	CF	DF	EC	MC	MP	RE	SS	AT	NF	L*	a*
CF	0,97**											
DF	0,93**	0,93**										
EC	0,69**	0,69**	0,73**									
MC	0,95**	0,94**	0,92**	0,77**								
MP	0,90**	0,87**	0,84**	0,53**	0,82**							
RE	0,50**	0,45**	0,55**	0,31*	0,38**	0,71**						
SS	0,64**	0,70**	0,75**	0,74**	0,70**	0,53**	0,38**					
AT	0,63**	0,61**	0,75**	0,52**	0,59**	0,63**	0,70**	0,58**				
NF	-0,29*	-0,25*	-0,24*	-0,32**	-0,26*	-0,29*	-0,18 ^{ns}	-0,003 ^{ns}	-0,09 ^{ns}			
L*	-0,52**	-0,55**	-0,60**	-0,68**	-0,55**	-0,42**	-0,38**	-0,72**	-0,61**	0,06 ^{ns}		
a*	0,55**	0,62**	0,61**	0,35**	0,58**	0,46**	0,15 ^{ns}	0,60**	0,45**	0,16 ^{ns}	-0,40**	
b*	0,39**	0,46**	0,46**	0,12 ^{ns}	0,41**	0,33**	0,02 ^{ns}	0,43**	0,24 ^{ns}	0,19 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,72**

(**) e (*) significativos a 1 e 5% de probabilidade pelo teste t, respectivamente. ^{ns} não significativo.

Além das análises de diversidade genética e correlações fenotípicas a estimativa dos coeficientes de repetibilidade em germoplasma é uma ferramenta eficiente, pois avalia a capacidade de estabilidade da característica de um indivíduo com redução de tempo e custo das avaliações (CRUZ et al., 2004; NEVES et al., 2010). As estimativas do coeficiente de repetibilidade, obtidas para as características físicas e químicas de frutos, encontram-se na Tabela 10. O método da análise de variância (ANOVA) alcançou os menores valores para estimação do coeficiente de repetibilidade em relação aos demais métodos. Em contrapartida, as estimativas alcançadas por meio dos componentes principais obtidos da matriz de variâncias e covariâncias fenotípicas (CPCOV) alcançaram os maiores coeficientes de repetibilidade. Segundo Abeywardena (1972), a técnica de componentes principais é o método que estima de forma eficaz o coeficiente de repetibilidade. Neves (2006) e Santos et al. (2010) relataram que os menores coeficientes de repetibilidade foram obtidos utilizando o método de análise de variância para os caracteres de fruto do maracujazeiro. Esses resultados corroboram os encontrados no presente estudo, onde a análise de variância apresentou os menores valores do coeficiente de repetibilidade em relação aos demais métodos estudados. Demais estudos realizados com fruteiras como a bananeira (LESSA et al., 2014), laranjeiras-doces (NEGREIROS et al., 2014), ameixeira e pessegueiro (DANNER et al., 2010), araçazeiro e pitangueira (DANNER et al., 2010), maracujazeiro (NEVES et al., 2010) e acerola (LOPES et al., 2001) também demonstraram que as estimativas obtidas pelo método da Anova foram sempre inferiores às encontradas pela análise multivariada. Por outro lado, o método de análise estrutural com base no autovalor teórico da matriz de correlação (AECOR) proposto por Mansour et al. (1981), apresenta apenas diferenças conceituais em relação ao método dos componentes principais (CRUZ et al., 2004).

De acordo com os resultados podemos observar que o comprimento e diâmetro de frutos apresentou concordância entre as estimativas. O comprimento de frutos alcançou coeficientes de repetibilidade entre 0,8010 e 0,8043, pela Anova e CPCOV, respectivamente. Em relação ao diâmetro de frutos, as estimativas variaram entre 0,7317 (ANOVA) e 0,7327 (CPCOV). Para Resende (2002), alcançar estimativas de coeficiente de repetibilidade de maior confiabilidade os valores considerados devem estar acima 0,60. Nestas características, sugere-se pouca influência ambiental e adequada regularidade dos caracteres, pois os coeficientes de determinação (R^2) foram superiores a 90%, em todos os métodos estudados. Nas características massa de polpa,

rendimento de suco, luminosidade, índice de cor b^* e acidez as estimativas de coeficientes de repetibilidade foram inferiores em relação às demais características. Coeficientes de repetibilidade baixos podem estar relacionados à variação ambiental (FERREIRA et al., 2005), o que acarreta menor estabilidade da característica havendo a necessidade se obter maior quantidade de medições, para alcançar acurácia os resultados (LESSA et al., 2014). Quanto a variável massa de fruto, a estimativa de coeficiente de repetibilidade variou de 0,6492 (ANOVA) a 0,6514 (CPCOR). Os coeficientes de determinação observados foram 91,74% (ANOVA), 91,60% (CPCOV), 91,81% (CPCOR), 91,79% (AECOR). Para o programa de melhoramento do maracujazeiro a massa e o tamanho de fruto são características de interesse, pois estão diretamente relacionadas com a produtividade da cultura.

A variação das estimativas do coeficiente de repetibilidade, o alto valor apresentado pelos métodos multivariados, principalmente o de componentes principais baseado na matriz de variância e covariância (CPCOV), são indicativos de que houve estabilidade do desempenho dos acessos de maracujazeiro nas medições (CRUZ et al., 2004). Para Shimoya et al. (2002), desde que leve em consideração o número de medições, qualquer uma das metodologias seria suficiente para que o processo de seleção genética tenha 80% de confiabilidade.

Tabela 10. Estimativas do coeficiente de repetibilidade (r) e seus coeficientes de determinação (R^2 , %), para 12 caracteres físico-químicos dos frutos de *Passiflora*.

Característica		ANOVA	CPCOV	CPCOR	AECOR
Massa de fruto (g)	r	0,6402	0,6451	0,6514	0,6507
	R^{2+}	91,74	91,60	91,81	91,79
Comprimento de fruto (cm)	r	0,8010	0,8043	0,8037	0,8035
	R^2	96,03	96,10	96,09	96,08
Diâmetro de fruto (cm)	r	0,7317	0,7327	0,7323	0,7322
	R^2	94,24	94,26	94,27	94,25
Espessura da casca (mm)	r	0,5526	0,5596	0,5532	0,5511
	R^2	88,11	88,41	88,14	88,05
Massa da casca (g)	r	0,6602	0,6666	0,6652	0,6642
	R^2	92,10	92,30	92,26	92,2275
Massa da polpa (g)	r	0,478	0,487	0,4827	0,4807
	R^2	84,60	85,07	84,84	84,74
Rendimento de polpa (%)	r	0,325	0,3358	0,3281	0,3232
	R^2	74,29	75,20	74,56	74,13

(Continuação Tabela 10)

Sólidos solúveis (°Brix)	r	0,6507	0,6543	0,6542	0,6514
	R ²	91,79	91,91	91,90	91,81
Acidez titulável (Ác. Cítrico g/100g)	r	0,1843	0,4535	0,294	0,2672
	R ²	57,55	83,28	71,41	68,64
L*	r	0,5463	0,5682	0,5621	0,5463
	R ²	87,84	88,75	88,50	87,84
a*	r	0,7395	0,7404	0,7408	0,7395
	R ²	94,45	94,47	94,48	94,45
b*	r	0,5609	0,566	0,5627	0,5609
	R ²	88,45	88,66	88,53	88,45

⁺ Obtido quando n = 6 medições. CPCOV: componentes principais obtidos da matriz de variâncias e covariâncias fenotípicas; CPCOR: componentes principais obtidos da matriz de correlação; AECOR: análise estrutural com base no autovalor teórico da matriz de correlação ou correlação média.

Os números de medições necessárias para a predição do valor real das características físicas e químicas de frutos de maracujazeiro encontram-se na Tabela 12. Ao estimar o coeficiente de determinação em torno de 90% para massa de fruto, massa de casca e sólidos solúveis, o número mínimo de medições necessárias para predizer o valor real dos genótipos foi de cinco frutos. Neves et al. (2010) verificaram que seriam necessárias 16 e 15 medidas para massa do fruto e sólidos solúveis para alcançar um coeficiente de determinação de 90% em maracujazeiro. Santos et al. (2010) verificaram que seriam necessárias 18 e 12 medidas para massa do fruto e massa de casca de maracujazeiro para alcançar o mesmo coeficiente de determinação. O número de medições necessárias para as características CF, DF e o índice de cor a* foram dois, três e três frutos, respectivamente. Neves et al. (2010) verificaram que seriam necessárias oito e 11 medidas para CF, DF para alcançar um coeficiente de determinação de 90%, discordando dos resultados encontrados neste trabalho.

Quanto aos caracteres massa de polpa, rendimento de suco e acidez, para todos os métodos avaliados, foi necessário maior número de medições, em razão das menores estimativas obtidas para o coeficiente de repetibilidade. Observou-se ser possível, com dez medições, obter uma precisão de 90% para a característica massa de polpa. Este resultado corrobora com estudo realizado por Santos et al. (2010), que determinaram que seriam necessárias no mínimo 10 medidas para a característica massa de polpa em maracujazeiro.

Quanto ao número de medições necessário para a predição dos genótipos quanto às características espessura da casca, luminosidade e índice de cor b^* são necessárias sete medições para uma acurácia de 90%. No entanto, para as características rendimento de suco (18 medições) e acidez (média de 25 medições), constata-se não ser vantajoso o aumento do número de medições visando maior nível de certeza na predição do valor real dos acessos. Porém, com 11 e sete medições, respectivamente, seria possível obter um coeficiente de determinação acima de 80%, levando em consideração o método de componentes principais obtidos da matriz de variâncias e covariâncias fenotípicas (CPCOV). Lessa et al. (2014) afirmam que quanto maior o número de medidas necessárias, maior o efeito do ambiente sobre a variável.

De maneira geral, as variáveis massa de fruto, comprimento e diâmetro do fruto, massa e espessura de casca, índice de cor a^* e sólidos solúveis apresentaram coeficientes de determinação superiores a 80%, inclusive com 90% de acurácia para as mesmas variáveis, demonstrando que o número de frutos coletados foi eficiente para a predição dos valores reais dos acessos avaliados de maracujazeiro. Entretanto, os caracteres rendimento de suco e acidez titulável apresentaram baixa repetibilidade, necessitando de uma quantidade maior de medições para obter níveis de 90% de determinação do valor real dos acessos de *Passiflora*.

Tabela 12. Número de medições necessárias para a predição do valor real das características físico-químicas de frutos de *Passiflora*, considerando quatro diferentes métodos e coeficiente de determinação (R^2) de 85, 90 e 95%.

Caracteres	Anova			Componentes Principais						Análise Estrutural		
	R^2 (%)			Covariância			Correlação			Correlação		
				R^2 (%)			R^2 (%)			R^2 (%)		
	85	90	95	85	90	95	85	90	95	85	90	95
MF (g)	3,06	4,86	10,27	3,00	4,76	10,06	3,03	4,82	10,17	3,04	4,83	10,20
CF (cm)	1,41	2,24	4,72	1,38	2,19	4,62	1,38	2,20	4,64	1,39	2,20	4,65
DF (cm)	2,08	3,30	6,97	2,07	3,29	6,95	2,07	3,28	6,93	2,07	3,29	6,95
EC (mm)	4,59	7,29	15,38	4,46	7,08	14,95	4,58	7,27	15,35	4,62	7,33	15,48
MC (g)	2,92	4,63	9,78	2,84	4,50	9,51	2,85	4,53	9,56	2,87	4,55	9,61
MP (g)	6,19	9,83	20,75	5,97	9,48	20,02	6,07	9,65	20,36	6,12	9,72	20,52
RE (%)	11,77	18,69	39,46	11,21	17,81	37,59	11,60	18,43	38,90	11,87	18,85	39,79
SS (°Brix)	3,04	4,83	10,20	2,99	4,76	10,04	3,00	4,76	10,04	3,03	4,82	10,17
AT(g/100g)	25,08	39,83	84,08	6,83	10,84	22,89	13,61	21,62	45,64	15,54	24,68	52,10
L*	4,70	7,47	15,78	4,30	6,84	14,44	4,41	7,01	14,80	4,70	7,47	15,78
a*	1,99	3,17	6,69	1,98	3,15	6,66	1,98	3,14	6,64	1,99	3,16	6,68
b*	4,43	7,04	14,87	4,34	6,90	14,57	4,40	6,99	14,76	4,45	7,06	14,92

MF: Massa total do fruto (g); CF: Comprimento de frutos (cm); DF: Diâmetro de frutos (cm); EC: Espessura da casca (mm); MC: Massa da Casca (g); MP: Massa da polpa (g); RE: Rendimento em polpa (%); AT: Acidez titulável (g/100g); L*: luminosidade; a* e b*: índices de cor da polpa.

4. CONCLUSÕES

As técnicas multivariadas para estudo de diversidade genética empregando caracteres relacionados aos frutos demonstram ter potencial de uso na caracterização de germoplasma de *Passiflora*, sendo possível identificar variabilidade intra e interespecífica dentro dos acessos bem como distinguir as espécies avaliadas.

O agrupamento UPGMA indicou a existência de variabilidade genética entre os acessos avaliados, apresentam grupos com acessos mais dissimilares com potencial a serem utilizados em futuras etapas de seleção e cruzamentos de genótipos.

Pela análise de componentes principais, as variáveis massa de casca, massa do fruto, diâmetro e comprimento de fruto contribuem para a máxima variabilidade observada nos acessos de *Passiflora*. Para essas características cinco medições são suficientes para predizer o valor real dos indivíduos com 90% de acurácia.

Os caracteres rendimento de suco e acidez titulável apresentam baixa repetibilidade, necessitando de uma quantidade maior de medições na seleção de genótipos com base nessas características.

5. REFERÊNCIAS

- ABEYWARDENA, V. An application of principal components analysis in genetics. **Journal of Genetic**, v. 16, p. 27-51, 1972.
- ALBUQUERQUE, A. S.; BRUCKNER, C. H.; CRUZ, C. D.; CASALI, V. W. D.; ARAÚJO, R. C.; MOREIRA, A. E.; SOUZA, J. A. Possibilidade de seleção indireta para peso do fruto e rendimento em polpa em maracujá (*Passiflora edulis* Sims). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, Belém. **Anais...** Belém: Embrapa, 2002.
- ANDERSON T. W. **An introduction to multivariate statistical analysis**. New York: John Wiley & Sons, p. 345, 1958.
- BARROS, L. de M. **Caracterização morfológica e isoenzimática do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), tipos comum e anão-precoce, por meio de técnicas multivariadas**. 1991. 256p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- CAMPOS, V. B.; FOGAÇA, T. da S.; ALMEIDA, W. L. de; BARBOSA, J. A.; OLIVEIRA, M. R. T. de; GONDIM, S. C.; CAVALCANTE, L. F. Caracterização física e química de frutos de maracujá-amarelo comercializados em Macapá, Amapá. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.15, p.27-33, 2013.
- CASTRO, J. A.; NEVES, C. G.; JESUS, O. N.; OLIVEIRA, E. J. Definition of morpho-agronomic descriptors for the characterization of yellow passion fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 145, p. 17-22, 2012.
- CAVICHOLI, J. C.; RUGGIERO, C.; VOLPE, C. A. Caracterização físico-química de frutos de maracujazeiro amarelo submetidos à iluminação artificial, irrigação e sombreamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.3, p.649-656, 2008.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005.
- 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

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

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

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

DANNER, M. A.; RASEIRA, M. C. B.; SASSO, S. A. Z.; CITADIN, I.; SCARIOT, S. Repetibilidade de massa de fruto e de duração do ciclo em ameixeira e pessegueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 872-878, 2010.

DANNER, M. A.; RASEIRA, M. C. B.; SASSO, S. A. Z.; CITADIN, I.; SCARIOT, S. Repetibilidade de caracteres de fruto em araçazeiro e pitangueira. **Ciência Rural**, v. 40, p. 2086-2091, 2010.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; JUNQUEIRA, K. P.; BELLON, G.; FONSECA, K. G.; PEIXOTO, J. R. Cruzamento interespecífico e retrocruzamentos visando á resistência do maracujazeiro a doenças. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 4., 2007, São Lourenço. **Anais...**

FARIAS, J. F.; SILVA, L. J. B.; ARAUJO NETO, S. E.; MENDONCA, V. **Qualidade do maracujá-amarelo comercializado em Rio Branco**, v. 20, p. 196-202, 2007.

FERREIRA, F. M.; NEVES, L. G.; BRUCKNER, C. H.; VIANA, A. P.; CRUZ, C. D.; BARELLI, M. A. A. Formação de supercaracteres para seleção de famílias de maracujazeiro amarelo. **Acta Scientiarum**, v.2, n.32, p.247-254, 2010.

FERREIRA, A.; BARBOSA, M. H. P.; CRUZ, C. D.; HOFFMANN, H. P.; VIEIRA, M. A. S.; BASSINELLO, A. I.; SILVA, M. F. da. Repetibilidade e número de colheitas para seleção de clones de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, p.761-767, 2005.

FISCHER, I. H.; ALMEIDA, A. M.; FILETI, M. S.; BERTANI, R. M. A.; ARRUDA, M. C.; BUENO, C. J. Avaliação de passifloraceas, fungicidas e *Trichoderma* para o manejo da podridão-do-colo do maracujazeiro, causada por *Nectria haematococca*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n.3, p. 709-717, 2010.

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 provenientes da irradiação com raios gama. **Ciência Rural**, v.41, n.11, 2011.

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

GANGA, R. M. D.; RUGGIERO, C.; LEMOS, E. G. M.; GRILI, G. G.; GONÇALVES, M. M.; CHAGAS, E. A.; WICKERT, E. Diversidade genética em maracujazeiro amarelo utilizando marcadores moleculares fAFLP. **Revista Brasileira de Fruticultura** v.26, p.494-498, 2004.

GOWER, J. C. A general coefficient of similarity and some of its properties. **Biometrics**, v. 27, n. 4, p. 857-874, 1971.

GRECO, S. M. L.; PEIXOTO, J. R.; FERREIRA, L. M. Avaliação física, físico-química e estimativas de parâmetros genéticos de 32 genótipos de maracujazeiro-azedo cultivados no Distrito Federal. **Bioscience Journal**, v. 30, p. 360-370, 2014.

KUMAR, S.; NEI, M.; DUDLEY, J.; TAMURA, K. MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. **Brief Bioinform**, p. 299-306, 2009.

KRAUSE, W.; NEVES, L. G.; VIANA, A. P.; ARAÚJO, C. A. T.; FALEIRO, F. G. Produtividade e qualidade de frutos de cultivares de maracujazeiro-amarelo com ou sem polinização artificial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, n.12, p.1737-1742, 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Produção agrícola municipal: Culturas temporárias e permanentes. 2014. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>> Acesso em: 19/01/2016.

JESUS, O. N.; SOARES, T. L.; OLIVEIRA, E. J. ; SANTOS, T. C. P.; FARIAS, D. H.; NOVAES, Q. S.; BRUCKNER, C. H. Evaluation of the morphologic, pollen viability and germination in progeny of the first backcross generation of passionfruit. In: INTERNATIONAL HORTICULTURAL CONGRESS, 2014, Brisbane. **Abstracts....** Brisbane: ISHS, 2014. v. 29.

- JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; BERNACCI, L. C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. p. 81-108, 2005.
- LESSA, L. S.; LEDO, C. A. S.; AMORIM, E. D.; SILVA, S. O. Estimativas de repetibilidade de híbridos diploides (AA) de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, p. 109-117, 2014.
- LOPES R.; BRUCKNER, C. H.; CRUZ, C. D.; LOPES, M. T. G.; FREITAS, G. B. Repetibilidade de características do fruto de aceroleira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 507-513, 2001.
- MANIWARA, P.; NAKANO, K.; BOONYAKIAT, D.; OHASHI, S.; HIROI, M.; TOHYAMA, T. The use of visible and near infrared spectroscopy for evaluating passion fruit postharvest quality. **Journal of Food Engineering**, v.143, p.33-43, 2014.
- MANSOUR, H.; NORDHEIM, E. V.; RULEDGE, J. J. Estimators of repeatability. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 60, p. 151-156, 1981.
- MARTUSCELLO, J. A.; JANK, L.; FONSECA, D. M. da; CRUZ, C. D.; CUNHA, D. de N. F. V. da. Repetibilidade de caracteres agronômicos em *Panicum maximum* Jacq. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.1975-1981, 2007.
- MINOLTA. **Precise Color Communication: Color Control from Feeling to Instrumentation**. Osaka: MINOLTA Co. Ltda., 1994. 49 p.
- MOJENA, R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: An evaluation. **The Computer Journal**, v. 20, n. 4, p. 359-363, 1977.
- MORALES, R. G. F.; RESENDE, J. T. V.; FARIA, M. V.; SILVA, P. R.; FIGUEIREDO, A. S. T.; CARMINATTI, R. Divergência genética em cultivares de morangueiro, baseada em caracteres morfoagronômicos. **Revista Ceres**, v. 58, p. 323-329, 2011.
- MORGADO, M. A. D.; SANTOS, C. E. M.; LINHALES, H.; BRUCKNER, C. H. Correlações fenotípicas em características físico-químicas do maracujazeiro-azedo. **Acta Agronomica**, v. 59, p. 457-461, 2010.

NEGREIROS, J. R. S.; ANDRADE-NETO, R. C.; MIQUELONI, D. P.; LESSA, L. S. Estimativa de repetibilidade para caracteres de qualidade de frutos de laranjeira-doce. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, p. 40-48, 2014.

NEVES, L. G.; BRUCKNER, C. H. ; CRUZ, C. D. ; BARELLI, M. A. A. Avaliação da repetibilidade no melhoramento de famílias de maracujazeiro. **Revista Ceres**, v. 57, p. 480-485, 2010.

NEVES, L. G. **Alternativas de seleção, predição de ganho genético, estimativas de correlação e coeficiente de repetibilidade em maracujazeiro amarelo**. Tese de doutorado. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 103 p., 2006.

OCAMPO, J.; URREA, R.; WYCKHUYS, W.; SALAZAR, M. Exploración de la variabilidad genética del maracuyá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener) como base para un programa de fitomejoramiento en Colombia. **Acta agronómica**, v.62, n.4, p.352-360, 2013.

OLIVEIRA, E. J.; FREITAS, J. P. X. ; JESUS, O. N. Adaptability and stability analysis of the juice yield of yellow passion fruit varieties. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, p. 6512-6527, 2014.

OLIVEIRA, E. J.; SOARES, T. L.; BARBOSA, C. J.; SANTOS-FILHO, H. P.; JESUS, O. N. Severidade de doenças em maracujazeiro para identificação de fontes de resistência em condições de campo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 485-492, 2013.

OLIVEIRA, E. J.; SANTOS, V. S.; LIMA, D. S.; MACHADO, M. D.; LUCENA, R. S.; MOTTA, T. B. N. Estimativas de correlações genotípicas e fenotípicas em germoplasma de maracujazeiro. **Bragantia**, v. 70, p. 255-261, 2011.

OLIVEIRA, E. J.; SANTOS, V. S.; LIMA, D. S.; MACHADO, M. D.; LUCENA, R. S.; MOTTA, T. B. N.; CASTELLEN, M. S. Selection on yellow passion fruit progenies by multivariate indices. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1543–1549, 2008.

PAIVA, C. L.; VIANA, A. P.; SANTOS, E. A.; SILVA, R. N. O.; OLIVEIRA, E. J. Diversidade genética de espécies do gênero *Passiflora* com o uso da estratégia Ward-MLM. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 381-390, 2014.

PEREIRA, A. V.; VENCovsky, R.; CRUZ, C. D. Selection of botanical and agronomical descriptors for the characterization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) germplasm. **Revista Brasileira de Genética**, v.15, p.115-124, 1992.

PINTO, W. S; DANTAS, A. C. V. L; FONSECA, A. A. O; LEDO, C. A da S; JESUS, S. C; CALAFANGE, P. L. P; ANDRADE, E. M. Caracterização física, físico-química e química de frutos de genótipos de cajazeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 1059-1066, 2003.

PREISIGKE, S. C.; MARTINI, F. V.; ROSSI, A. A. B.; SERAFIM, M. E.; BARELLI, M. A. A.; LUZ, P. B.; ARAÚJO, K. L.; NEVES, L. G. Genetic variability of *Passiflora* spp. against collar rot disease. **Australian Journal of Crop Science**, v.9, p.69-74, 2015.

QUINTAL, S. S. R. **Caracterização e avaliação de um banco de germoplasma de mamoeiro para estudo dos parâmetros genéticos e diversidade genética**. Campo dos Goytacazes, 2009. 168 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, UENF.

RESENDE, M. D. V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. 21.ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2002. 975p.

SANTOS, E. A.; VIANA, A. P.; FREITAS, J. C. O.; SILVA, F. H. L.; RODRIGUES, R.; EIRAS, M. Resistance to *Cowpea aphid-borne mosaic virus* in species and hybrids of *Passiflora*: advances for the control of the passion fruit woodiness disease in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 1, p. 123-134, 2015.

SANTOS, C. E. M.; BRUCKNER, C. H.; CRUZ, C. D.; SIQUEIRA, D. L.; PIMENTEL, L. D.; ROSADO, L. D. S. Repetibilidade em características do fruto do maracujazeiro. **Revista Ceres**, v.57, n.3, p.343-350, 2010.

SÃO JOSÉ, A. R. **A cultura do maracujazeiro: produção e mercado**. Vitória da Conquista: DFZ/ UESB, 1994. 29p.

SHIMOYA, A.; PEREIRA, A. V.; FERREIRA, R. de P.; CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. Repetibilidade de características forrageiras do capim-elefante. **Scientia Agricola**, v.59, p.227-234, 2002.

SILVA, A. S.; OLIVEIRA, E. J.; OLIVEIRA, E. J.; HADDAD, F.; LARANJEIRA, F. F.; JESUS, O. N.; OLIVEIRA, S. A. S.; COSTA, M. A. P. C.; FREITAS, J. P. X. Identification of passion fruit genotypes resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n.3, p. 236-242, 2013.

SILVA, P.S.L.; SÁ, W.R.; MARIGUELE, K.H.; BARBOSA, A.P.R.; OLIVEIRA, O.F. Distribuição do teor de sólidos solúveis totais em frutos de algumas espécies de clima temperado. **Revista Caatinga**, v. 15, p.19-23, 2002.

SILVA, D. F. P. da; SIQUEIRA, D. L. de; ROCHA, A.; SALOMÃO, L. C. C.; MATIAS, R. G. P.; STRUIVING, T. B. Diversidade genética entre cultivares de mangueiras, baseada em caracteres de qualidade dos frutos. **Revista Ceres**, v. 59, p. 225-232, 2012.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, v.11, n.1, p.30-40, 1962.

SOUSA, L.B. ; SILVA, E.M. ; GOMES, RLF ; LOPES, A.C. de A. ; SILVA, I. C. V. Caracterização e divergência genética de *Passiflora edulis* e *P. cincinnata* com base em características químicas e físicas de frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, p. 832-839, 2012.

SUDRÉ, C. P.; GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; AMARAL JÚNIOR, A. T. DO; RIVA-SOUZA, E. M.; BENTO, C. S. Genetic variability in domesticated *Capsicum* spp. as assessed by morphological and agronomic data in mixed statistical analysis. **Genetics and Molecular Research**, v.9: 283-294, 2010.

VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SOUZA, M. M. de; MALDONADO, J. F. M.; AMARAL JÚNIOR, A. T. do. Genetic diversity in yellow passion fruit populations. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.6, p.87-94, 2006.

XAVIER, A.; BORGES, R. C. G.; CRUZ, C. D.; CECON, P. R. Aplicação da análise multivariada da divergência genética no melhoramento de *Eucalyptus* spp. **Revista Árvore**, v.20, p.495-505, 1996.

CAPÍTULO III

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E RESPOSTA À INFECÇÃO POR *Cowpea aphid-borne mosaic virus* DE PROGÊNIES RC1 DE MARACUJAZEIRO

RESUMO

A produtividade e a longevidade do maracujazeiro azedo têm sido reduzidas, especialmente em decorrência de doenças foliares. Entre as doenças que acometem o maracujazeiro, o endurecimento dos frutos causado pelo *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) é considerada a mais importante economicamente. A alternativa buscada pelos programas de melhoramento é a introgressão de genes de resistência de espécies silvestres para as comerciais, por meio de hibridações interespecíficas com variedade comercial. Sendo assim, o trabalho foi desenvolvido com o objetivo de caracterizar morfológicamente e avaliar progênies da primeira geração de retrocruzamento para resistência ao CABMV. Para obtenção de híbridos interespecíficos foram selecionados os acessos BGP077 (*P. cincinnata* Mast.) e BGP330 (*P. edulis* f. *flavicarpa*). O acesso BGP077 foi utilizado como genitor feminino em cruzamento com o BGP330, genitor masculino, e uma população híbrida F1 foi gerada. Os híbridos F1 gerados foram avaliados nas condições de campo para resistência ao CABMV. A avaliação fenotípica (morfológica e resistência à virose) dos híbridos F1 possibilitou selecionar as plantas H30, H44, H45, H49 e H57. As plantas selecionadas foram utilizadas como genitoras femininas e retrocruzadas com o genitor recorrente BGP330 (*P. edulis* f. *flavicarpa*), originando a primeira geração de retrocruzamento – RC1 [(BGP077 x BGP330) x BGP330] sendo 9 progênies RC1-H30, 23 progênies da RC1-H44, 26 progênies da RC1-H45, 20 progênies da RC1-H49 e 10 progênies da RC1-H57. A resistência genética das plantas foi avaliada quanto ao índice de doença McKinney, a partir de uma escala de notas de 1 (resistente) a 4 (altamente suscetível), conforme intensidade de sintomas na planta e por meio de PTA-ELISA. Para a caracterização morfológica, as nove progênies RC1-H30, 23 progênies da RC1-H44, 26 progênies da RC1-H45, 20 progênies da RC1-H49 e 10 progênies da RC1-H57 foram avaliadas mediante o uso de 48 descritores, sendo 40 variáveis multicategóricas qualitativas, e oito quantitativas. Os descritores foram submetidos à análise de diversidade utilizando-se como medida de dissimilaridade a distância de Gower e método de agrupamento *Unweighted Pair Grouped Method Average* (UPGMA). A

incidência de virose avaliada nas progênies híbridas indicou que as progênies das séries RC1-H44 e RC1-H57, foram mais similares ao *P. cincinnata*, mais tolerantes ao CABMV e apresentaram baixos valores de absorvância. O híbrido RC1-H57-83 se destacou por apresentar menor índice de severidade do CABMV (15,6%), podendo ser utilizado como genitor feminino na geração RC2. A caracterização morfológica nas progênies híbrida, possibilitou a identificação de indivíduos com características mais similares aos parentais e com diferentes graus de tolerância ao CABMV.

Palavras-chave: *Passiflora* spp., híbrido interespecífico, retrocruzamento, CABMV

CHAPTER III

MORPHOLOGICAL ASSESSMENT AND RESPONSE TO INFECTION *Cowpea aphid-borne mosaic virus* IN PROGENIES RC1 OF PASSION FRUIT

ABSTRACT

Productivity and longevity of sour passion fruit have been reduced, especially due to foliar diseases. Among the diseases that affect the passion, hardening of the fruit caused by *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) is considered the most important economically. The alternative sought by breeding programs is the introgression of resistance genes from wild species for trade through interspecific hybridization with commercial variety. Thus, the study was conducted in order to characterize morphologically and evaluate progeny of the first generation of backcrossing to resistance CABMV. To obtain interspecific hybrids were selected BGP077 access (*P. cincinnata* Mast.) and BGP330 (*P. edulis* f. *flavicarpa*). Access BGP077 was used as female parent in crossing with the BGP330, male parent, and a F1 hybrid population was generated. The F1 hybrids generated were evaluated under field conditions for resistance to CABMV. The phenotypic evaluation (morphological and resistance to viral infection) of F1 hybrid plants allowed select the H30, H44, H45, H49 and H57. The selected plants were used as female progenitors and backcrossed with the recurrent parent BGP330 (*P. edulis* f. *flavicarpa*) resulting in the first generation of backcross - RC1 [(BGP077 BGP330 x) x BGP330] being 9 RC1-H30 progenies, 23 progenies the RC1-H44, 26 progenies of RC1-H45, 20 progenies of RC1-H49 and 10 progenies of RC1-H57. Genetic resistance of the plants were evaluated for disease index McKinney, from a scale from 1 (resistant) to 4 (highly susceptible), according to symptom intensity in the plant and through PTA-ELISA. For morphological characterization, nine RC1-H30 progenies, 23 progenies RC1-H44, 26 progenies RC1-H45, 20 progenies RC1-H49 and 10 progenies RC1-H57 were evaluated by use of 48 descriptors, 40 multicategoric qualitative variables, eight quantitative. The descriptors underwent diversity analysis using as a measure of dissimilarity distance Gower and clustering method Unweighted Pair Grouped Method Average (UPGMA). The incidence of virus assessed in hybrid progenies indicated that the progenies of RC1 and RC1-H44-H57 series, were more similar to *P. cincinnata*, more tolerant CABMV and had low absorbance values. The hybrid RC1-H57-83 stood out with less CABMV severity index (15.6%) and can be

used as female parent in RC2 generation. Morphological characterization in hybrid progeny, enabled the identification of individuals with similar characteristics to parental and with different degrees of tolerance CABMV.

Keywords: *Passiflora* spp, interspecific hybrid, backcross, CABMV

1. INTRODUÇÃO

O maracujazeiro é uma planta tropical do gênero *Passiflora* e pertence à família Passifloraceae com ampla diversidade genética e de grande importância econômica (MARUKI-UCHIDA et al., 2013). O Brasil destaca-se como o maior produtor mundial de maracujá amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa* O. Deg.) com uma produção de 838.284 toneladas numa área de 56.825 ha com destaque para a região Nordeste do Brasil (IBGE, 2014).

A produtividade e a longevidade desta cultura têm sofrido reduções nos últimos anos, especialmente em decorrência de doenças foliares. Entre as doenças que acometem a cultura, em todos os estados produtores, o endurecimento dos frutos causado pelo *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) é considerada a mais importante economicamente (KITAJIMA et al., 1986; SÃO JOSÉ et al., 2011). Plantas infectadas com o CABMV apresentam enrugamento, bolhosidade, distorção e redução na área foliar afetando diretamente a produção, pois os frutos ficam menores, deformados e endurecidos (REZENDE, 2006). O primeiro relato do CABMV no Brasil, ainda descrito como isolado de *Passion fruit woodiness virus* (PWV), foi na década de 1970, no estado da Bahia que resultou em quedas na produção de maracujá. Posteriormente, Nascimento et al. (2006), ao realizarem análise filogenética de *Potyvirus*, no Nordeste do Brasil, observaram identidade compatível com isolados de *Cowpea aphid-borne mosaic virus*. O CABMV pode ser transmitido por pulgões, mecanicamente por meio de instrumentos de corte e por enxertia.

A identificação de fontes de resistência ao CABMV é uma etapa fundamental no processo de melhoramento genético do maracujazeiro, por se tratar de uma doença presente nas principais regiões produtoras do Brasil (OLIVEIRA et al., 2013). A maioria dos genótipos melhorados de maracujazeiro amarelo tem demonstrado severidade de mediana resistência a suscetíveis (LEÃO et al., 2006), por outro lado algumas espécies silvestres são fontes interessantes de resistência a doenças, vigor e precocidade. A introgressão de genes de resistência de espécies silvestres para a espécie comercial *P. edulis* f. *flavicarpa*, por meio de hibridações interespecíficas, seguida de ciclos de retrocruzamento com a cultivar comercial pode constituir uma alternativa para o melhoramento genético do maracujazeiro. Dentre as espécies com potencial, destaca-se o *P. cincinnata* Mast., que possui atributos importantes para o melhoramento genético como resistência a doenças foliares (OLIVEIRA et al., 2013) e tolerância a seca (ZUCARELI et al., 2009).

Além da resistência a doenças, outros caracteres morfológicos são de grande importância para acompanhar variabilidade genética, identificar características agronômicas desejáveis a fim de identificar os melhores híbridos que serão utilizados nas etapas posteriores do retrocruzamento. Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi caracterizar morfológicamente e avaliar progênies da primeira geração de retrocruzamento para resistência ao CABMV.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de condução e progênies avaliadas

O experimento foi conduzido no campo experimental (12°48'S e 39°06'W) da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas - BA. O plantio foi realizado no espaçamento de 2,0 m entre fileiras e 2,0 m entre plantas, sendo todos os tratos culturais feitos conforme recomendação técnicas para a cultura. Para obtenção de híbridos interespecíficos foram selecionados os acessos BGP077 (*P. cincinnata* Mast.) e BGP330 (*P. edulis* f. *flavicarpa*). O acesso BGP077 foi utilizado como genitor feminino em cruzamento com o BGP330, genitor masculino, e uma população híbrida F1 foi gerada. Os híbridos F1 gerados foram avaliados nas condições de campo para resistência ao CABMV. A avaliação fenotípica (morfológica e resistência à virose) dos híbridos F1 possibilitou selecionar as plantas H30, H44, H45, H49 e H57. As plantas selecionadas foram utilizadas como genitoras femininas e retrocruzadas com o genitor recorrente BGP330 (*P. edulis* f. *flavicarpa*), originando a primeira geração de retrocruzamento – RC1 [(BGP077 x BGP330) x BGP330] sendo 9 progênies RC1-H30, 23 progênies da RC1-H44, 26 progênies da RC1-H45, 20 progênies da RC1-H49 e 10 progênies da RC1-H57.

2.2 Avaliação da severidade da virose em progênies RC1

As avaliações dos sintomas da virose foram realizadas visualmente após a ocorrência natural da doença no campo. Foi realizada uma avaliação a cada 15 dias no período de março a outubro de 2013, totalizando 15 avaliações em plantas com sete meses de idade. Utilizou-se o critério de sintomatologia visual, de acordo com a intensidade de manifestação dos sintomas em toda planta, segundo Oliveira et al. (2013). A severidade dos sintomas foliares foi avaliada por meio da escala de notas de 1

a 4, proposta por Novaes e Rezende (1999) e adaptada por Sousa (2005), sendo: 1= sem sintomas (resistente); 2= mosaico leve sem deformações foliares (medianamente resistente); 3= mosaico severo sem deformação foliar (suscetível) e 4= mosaico severo, bolhas e deformações foliares (altamente suscetível) Figura 1. Para cada planta avaliada foi calculado o índice de severidade das doenças segundo índice de McKinney (1923). Os dados da incidência da virose foram submetidos à análise de diversidade utilizando como medida de dissimilaridade a distância de Gower e o método de agrupamento *Unweighted Pair Grouped Method Average* (UPGMA).

2.3 Avaliação da resistência ao CABMV por ELISA

Após a avaliação visual dos genótipos de *Passiflora*, amostras de folhas com sintomas de mosaico e deformação foliar foram coletadas no campo e avaliadas por meio de PTA-ELISA (*Plate Trapped Antigen – Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) com antissoro policlonal específico para o CABMV.

As 90 amostras foliares de maracujazeiro foram trituradas em tampão “protetor Paul” (0,1126 g de DIECA, 0,0372 g e 0,057 g de tioglicolato de sódio) na proporção de 1/5 (g mL⁻¹) e diluídas em PBSTPo (1.200 mL de PBS-T, 2% de polivinilpirrolidone, PVP) na proporção 1/1 (mL mL⁻¹). Os extratos dos controles positivos, negativos e as amostras foram aplicados nos orifícios de placas de poliestireno com 96 cavidades, segundo metodologia de Silva (2012) adaptada.

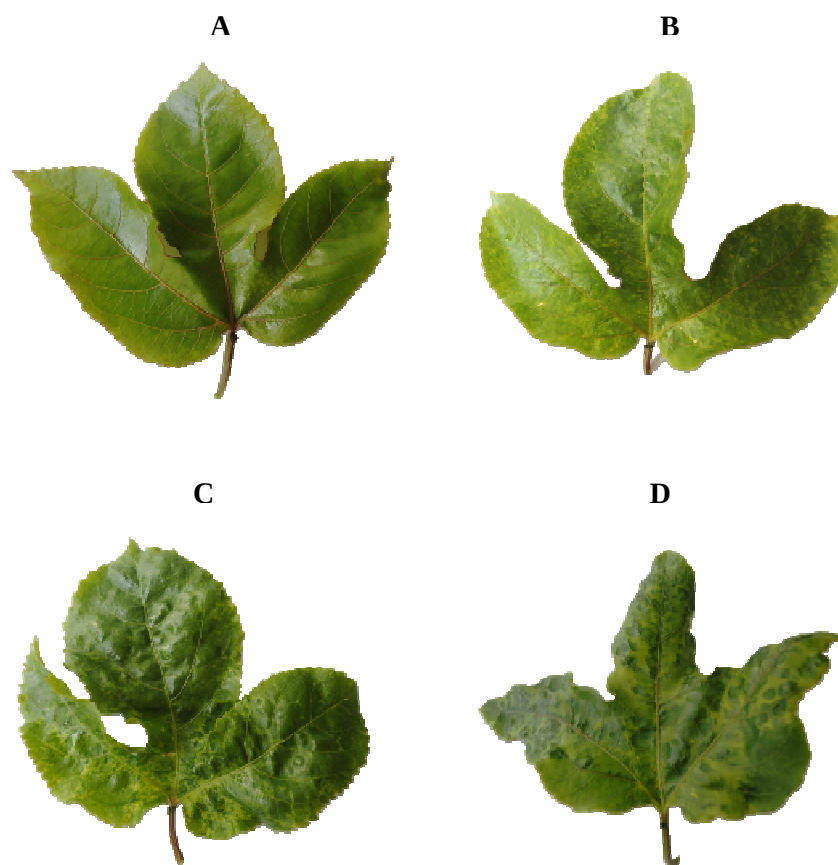


Figura 1. Folhas de maracujazeiro amarelo classificadas conforme a severidade: A) Folha sem sintomas (Nota 1); B) Mosaico leve sem deformações foliares (Nota 2); C) Mosaico severo sem deformação foliar (Nota 3); D) Mosaico severo, bolhosidade e deformações foliares (Nota 4). Fotos: Farias, D. da H.

2.4 Caracterização morfológica de híbridos interespecíficos

Para a caracterização morfológica, os 90 indivíduos foram avaliados mediante descritores morfológicos (JESUS et al., 2013). Foram utilizados 40 caracteres qualitativos e oito quantitativos, incluindo atributos relacionados à planta, folha e flor (Figura 2). As flores foram coletadas obedecendo-se o horário de abertura para cada acesso e as medições foram obtidas com o auxílio de paquímetro. Os descritores foram submetidos à análise de diversidade utilizando-se como medida de dissimilaridade a distância de Gower e método de agrupamento *Unweighted Pair Grouped Method Average* (UPGMA).

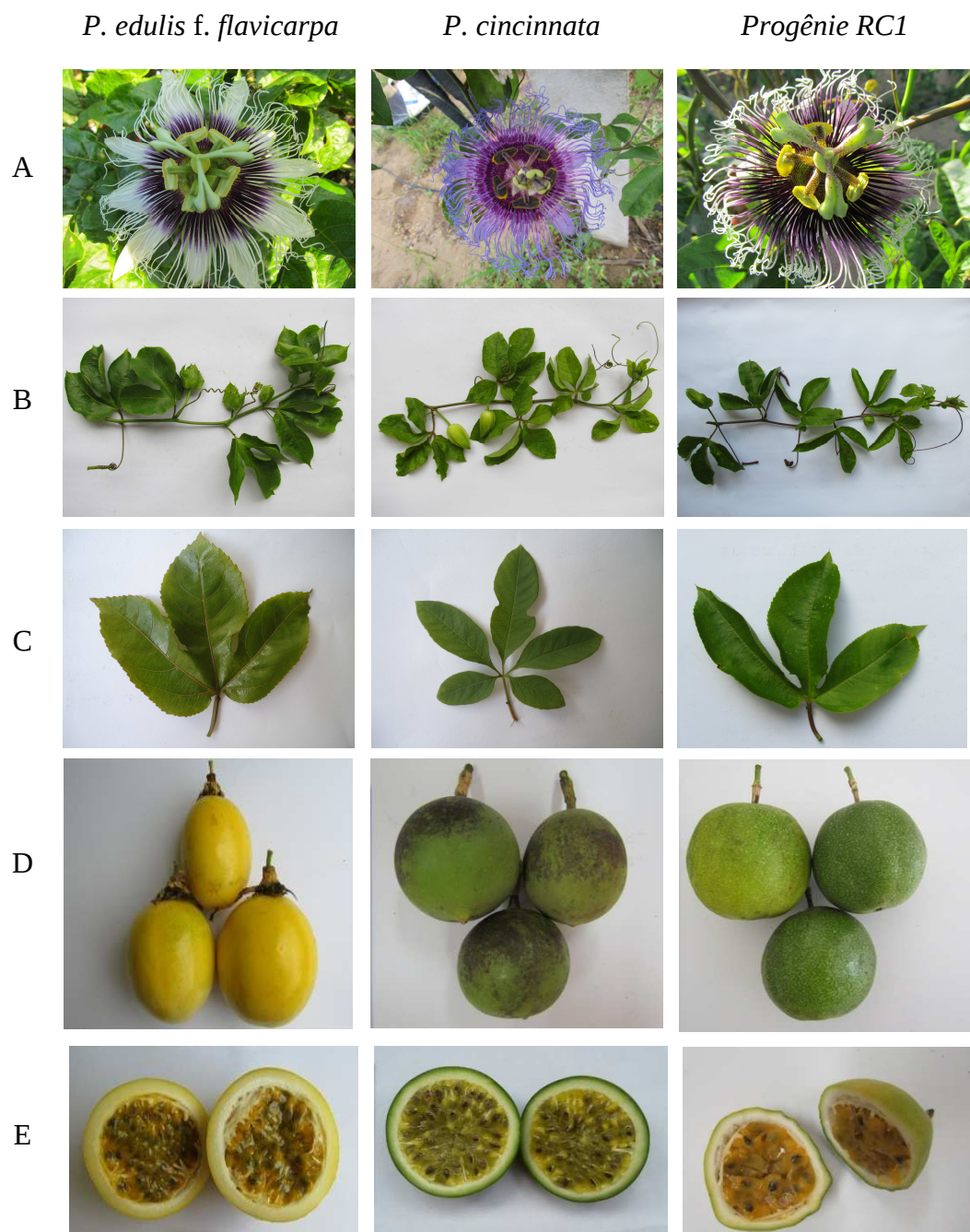


Figura 2. Flores (A), ramos (B), folhas (C), fruto (D e E) dos parentais *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. cincinnata* e Progênie RC1 utilizadas para a caracterização mediante descritores morfológicos. Fotos: Farias, D. da H.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As avaliações visuais da virose demonstram ampla variação dos sintomas nos diferentes indivíduos, desde plantas assintomáticas até plantas com sintomas severos com mosaico bolhoso e deformação foliar, a partir do primeiro mês de monitoramento.

O coeficiente de correlação cofenética (0,89) indica concordância entre a disposição gráfica da distância genética e a matriz original. Constatou-se que 89,77% das plantas já apresentavam sintomas de infecção pelo CABMV. Os parentais BGP077 (*P. cincinnata*) e o BGP330 (*P. edulis* f. *flavicarpa*) que apresentaram sintomas característicos da virose foram caracterizados como medianamente resistente ou tolerante (média de 36,0%; variando 24,4% a 48,9%) e suscetível (66,1% variando de 44,4 a 100%) ao CABMV, respectivamente (Figura 3). É importante destacar que o valor encontrado para acesso BGP077 trata-se da média de nove plantas e os F1 foram obtidos do cruzamento de plantas do acesso BGP3330 com plantas visivelmente sadias do BGP077, na época da avaliação.

O índice de severidade médio do CABMV entre os 90 genótipos de *Passiflora* avaliados em condições de ocorrência natural, variaram de 15,6% a 93,3%. A progênie RC1-H57-83 se destacou por apresentar menor índice de severidade do vírus do endurecimento dos frutos (15,6%), seguido do RC1-H49-67 (17,8%), enquanto as progênies RC1-H49-63 e RC1-H49-70 apresentaram o maior índice de severidade (93,3%) à virose do endurecimento.

A análise de cluster das progênies RC1 [(BGP330 x BGP077) x BGP330] formou quatro grupos. O grupo I (verde) foi constituído por 16 progênies (18,2%) com o índice de doença variando de 15,6% a 33,3% (Figura 3b), sendo consideradas como tolerantes. O grupo II (rosa) composto por 22,7% das progênies, com índice de doença variando de 37,8% a 48,9%, sendo também classificado como medianamente resistente (Figura 3c). Nos grupos I e II há predominância de progênies da série RC1-H44 (33%), provavelmente o parental (híbrido F1-H44) possui no seu genoma o(s) gene(s) para resistência à virose devido à baixa intensidade de sintomas nas folhas. Este resultado é interessante para o programa de melhoramento, pois a variação do índice de doença existente entre as progênies contribui para a seleção de genótipos com maior tolerância ao CABMV. Por sua vez, o grupo III (azul) foi composto por 51,13% das progênies avaliadas, com variações no índice de doença de 51,1% a 75,6%, sendo caracterizado

como suscetível ao CABMV, obtendo destaque para a progênie da série RC1-H45 (Figura 3d). O grupo IV (vermelho) composto por 7,95% das progênes e que apresentou sintomas mais severos da doença obteve os maiores índices, variando de 80% a 93,3%, sendo considerado altamente suscetível à incidência da virose, evidenciando a progênie RC1-H49 (Figura 3e).

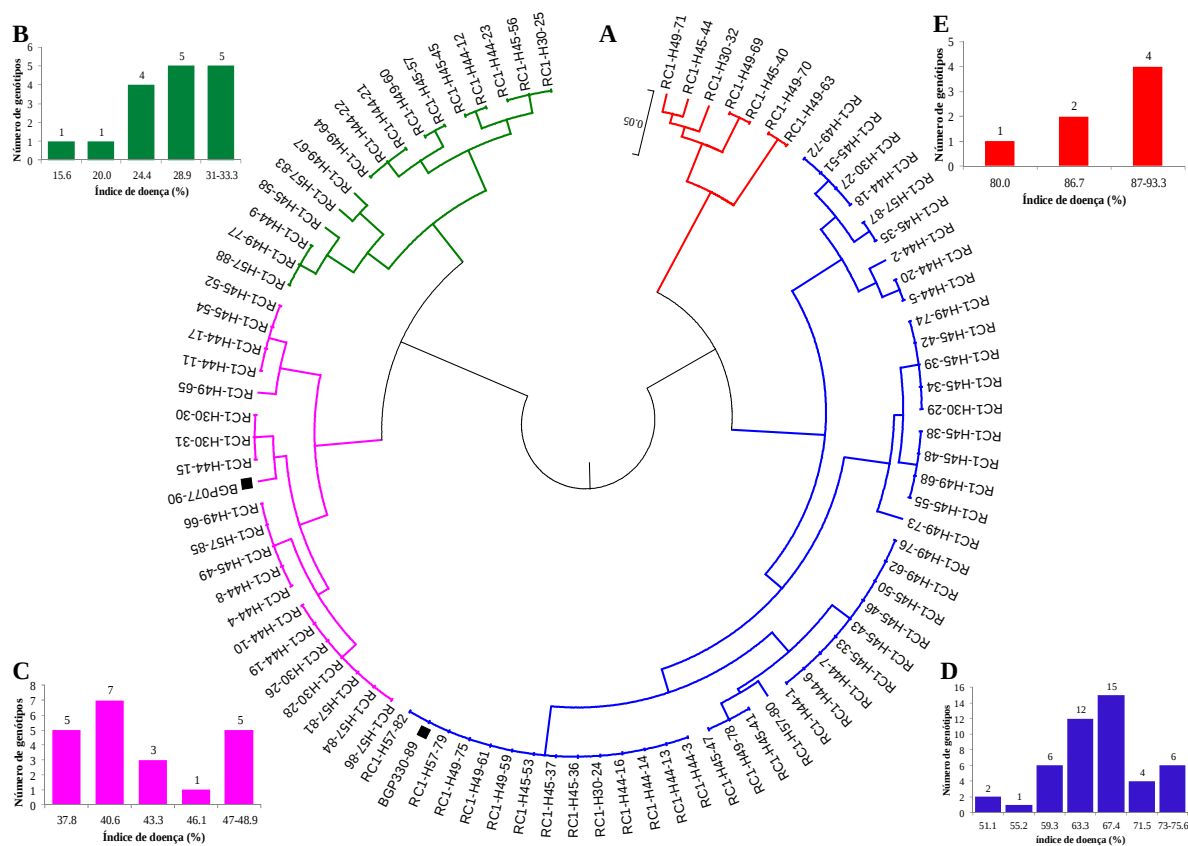


Figura 3. A) Dendrograma de dissimilaridade genética de maracujazeiro, com base na avaliação da sintomatologia do CABMV, utilizando-se a distância de Gower e obtido pelo método de agrupamento UPGMA. B) Histograma da distribuição de híbridos interespecíficos tolerantes (R); C) Histograma da distribuição de híbridos interespecíficos medianamente resistentes (MS); D) Histograma da distribuição de híbridos interespecíficos suscetíveis (S) e E) Histograma da distribuição de híbridos interespecíficos altamente suscetíveis (AS). ■ – Genitor feminino (BGP077) e genitor masculino (BGP330).

A similaridade média das progênes, considerado à da severidade da virose na planta, em relação aos parentais, BGP077 e BGP330 variou de 0,93 a 0,35 e de 0,93 a

0,49, respectivamente (Figura 4a). A similaridade entre os parentais em relação às progênes da primeira geração de retrocruzamento (RC1) indica a predominância da progênie da série RC1-H45, apresentando maior similaridade (0,83) com o genitor recorrente BGP330. Em contrapartida, as progênes RC1-H44 e RC1-H57 apresentaram maior similaridade ao genitor feminino BGP077 com 0,81 e 0,79, respectivamente (Figura 4b). Desta forma, verifica-se uma proximidade genética entre as progênes do grupo I e II com o parental feminino BGP077 (*P. cincinnata*) considerada tolerante ao CABMV (OLIVEIRA et al., 2013) com destaque para os híbridos RC1-H44-9 e RC1-H44-12 com severidade de 22% e 26%, respectivamente (Figura 3). As progênes do grupo III e IV foram mais similares ao parental masculino BGP330 (*P. edulis* f. *flavicarpa*), espécie considerada suscetível ao vírus, com índices de severidade acima de 51% (Figura 3).

Considerando que as progênes avaliadas são da primeira geração de retrocruzamento, espera-se que 75% do genoma do genitor recorrente (BGP330) e 25% do genitor doador (BGP077) assim, a severidade à virose ao longo dos ciclos de retrocruzamento tende a ser mais próximos do parental recorrente. A escolha de genótipos com maior similaridade em relação ao genitor recorrente pode reduzir o número de gerações necessárias para recuperar uma grande parte do seu genoma (MORAES et al, 2005; FONSECA et al, 2009).

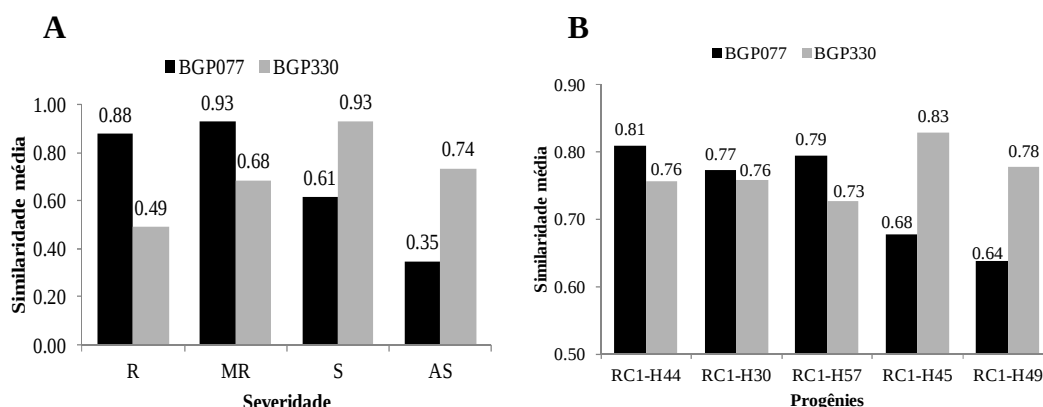


Figura 4. A) Similaridade média dos parentais (BGP077 e BGP330) em relação às progênes RC1 classificadas como R (Resistente), MR (Medianamente Resistente), S (Suscetível) e AS (Altamente Suscetível) com base no índice de doença e análise cluster (Figura 3). B) Similaridade média dos parentais (BGP077 e BGP330) em relação às progênes da primeira geração de retrocruzamento (RC1) com base na severidade do endurecimento dos frutos do maracujazeiro.

Junqueira et al. (2005) verificaram resistência ao CABMV nas folhas na espécie *P. setacea* e em plantas F1 de cruzamento *P. edulis* e *P. setacea*. Na geração RC1, as plantas foram classificadas como susceptíveis e a partir de RC2 a classificação foi de altamente susceptível. Desse modo, acredita-se que resistência das plantas à virose foi diluída durante os retrocruzamentos chegando a níveis de severidade similares aos observados no genitor masculino, o que pode ser devido à natureza poligênica dessa resistência.

Segundo Oliveira et al. (2013), a finalidade de promover a avaliação de espécies de *Passiflora*, sobretudo *P. cincinnata* e *P. setacea*, deve-se ao fato de que observações de campo indicaram que estas espécies tendem a apresentar sintomas mais leves da virose do endurecimento dos frutos. Outros estudos também apontam para espécies de *Passiflora* que possuem gene para resistência a virose do endurecimento (JUNQUEIRA et al., 2005, MACIEL et al., 2009).

De acordo com a média da absorvância realizada pelo PTA-ELISA, todos os 88 indivíduos e o controle positivo reagiram positivamente com o antissoro policlonal contra o CABMV, confirmando que o teste foi realizado corretamente (Figura 5). De acordo com a média das absorvâncias, observa-se que as progênies RC1-H44 e RC1-H57 apresentaram valores inferiores (0,477 e 0,465, respectivamente) quando comparadas às demais progênies. O baixo valor de absorvância obtido para esses genótipos, quando comparados aos do controle positivo e as demais progênies, pode indicar um grau de tolerância nas plantas híbridas. Entretanto, quando se compara os genitores, verifica-se que o *P. edulis* f. *flavicarpa* (BGP330), considerado suscetível, obteve valor de absorvância inferior ao *P. cincinnata* (BGP077), avaliado como medianamente resistente. Esses resultados indicam que a intensidade de sintomas nas plantas, em condições de ocorrência natural, depende de diversos fatores como agressividade da estirpe viral, das condições ambientais e do indivíduo avaliado (NOVAES; REZENDE, 1999; NASCIMENTO et al., 2006). Possivelmente, *P. edulis* f. *flavicarpa* que apresentou sintomas bastante visíveis nas avaliações de severidade, pode ter uma maior eficiência nos processos de replicação e translocação do vírus na planta. Outra possibilidade seria o vírus induzir sintomas mais severos nas plantas, independente da concentração das partículas virais, pois nem sempre esta é diretamente proporcional à severidade dos sintomas (RESENDE et al., 2000).

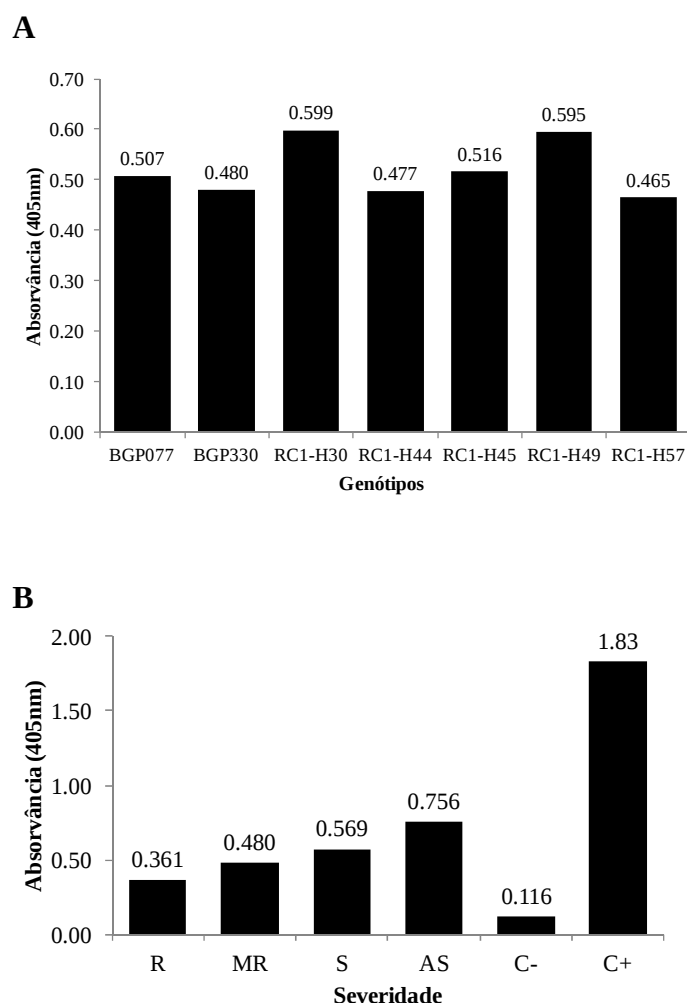


Figura 5. Valores de absorvância para PTA/ELISA de parentais *P. edulis* f. *flavicarpa* (BGP330), *P. cinccinata* (BGP077) e progênies RC1 avaliados quanto à resistência ao CABMV. Resistente (R); Medianamente resistente (MR); Suscetível (S); Altamente suscetível (AS); Controle negativo (C-) e Controle positivo (C+).

Apesar de todos os RC1 terem apresentado infecção sistêmica com diferentes concentrações virais, houve variabilidade entre os indivíduos quanto ao índice de severidade dos sintomas apresentados, corroborando os resultados obtidos pela sintomatologia visual. Essa variabilidade pode estar ligada à determinação de sintomatologia e replicação, existentes no genoma viral. Novaes e Rezende (2003), utilizando o teste ELISA, identificaram também concentrações virais muito irregulares entre diferentes folhas, e até mesmo em diferentes regiões da mesma folha, ao estudar estirpes deste vírus em maracujazeiro. Essa variabilidade pode estar associada à

heterogeneidade genética do gênero, pois se trata de plantas de polinização cruzada. Por outro lado, a exploração da variabilidade genética entre espécies de *Passiflora* e, sobretudo, dentro da espécie cultivada, poderá revelar fontes de resistência no controle da doença em campo. De acordo com os resultados obtidos, é possível pressupor que a sintomatologia observada pelo índice de severidade do CABMV, pode não estar diretamente relacionada às concentrações virais, pois a distribuição das partículas na planta depende da translocação e replicação do vírus que nem sempre são homogêneas e bem distribuídas ao longo do sistema vascular.

A análise de agrupamento dos indivíduos, segundo as variáveis morfológicas das plantas, utilizando o método hierárquico aglomerativo da média entre os pares não ponderados (UPGMA), realizado a partir da distância de Gower apresentou coeficiente de correlação cofenética (0,80), indicando que houve concordância entre a distância genética e a matriz original, assegurando as inferências realizadas por meio da Figura 6. Observa-se a formação de nove grupos, destes, os grupos I, II, V e VII reuniram número maior de progênies, 23,9%, 22%, 12,5% e 15,9%, respectivamente, com destaque para o grupo II que apresentou maior variabilidade em termos de genealogia dos cruzamentos, incluindo representantes das progênies RC1 (H30, H44, H45, H49 e H57). O grupo III foi constituído por 5,7% das progênies, havendo predominância de indivíduos RC1-H57. Por sua vez os grupos IV, VI e VIII alocaram 6,8% das progênies, reunindo indivíduos do RC1-H30, H49, H45 e H57, evidenciando o grupo IV que alocou o genitor masculino *P. edulis* f. *flavicarpa* (BGP330) e as progênies mais próximas em relação ao parental recorrente. Em contrapartida, o grupo IX formado pelo genitor feminino *P. cincinnata* (BGP077) classificada como *outgroup*, possivelmente por ser espécie silvestre, onde se observa diferenças significativas nas características morfológicas dos indivíduos.

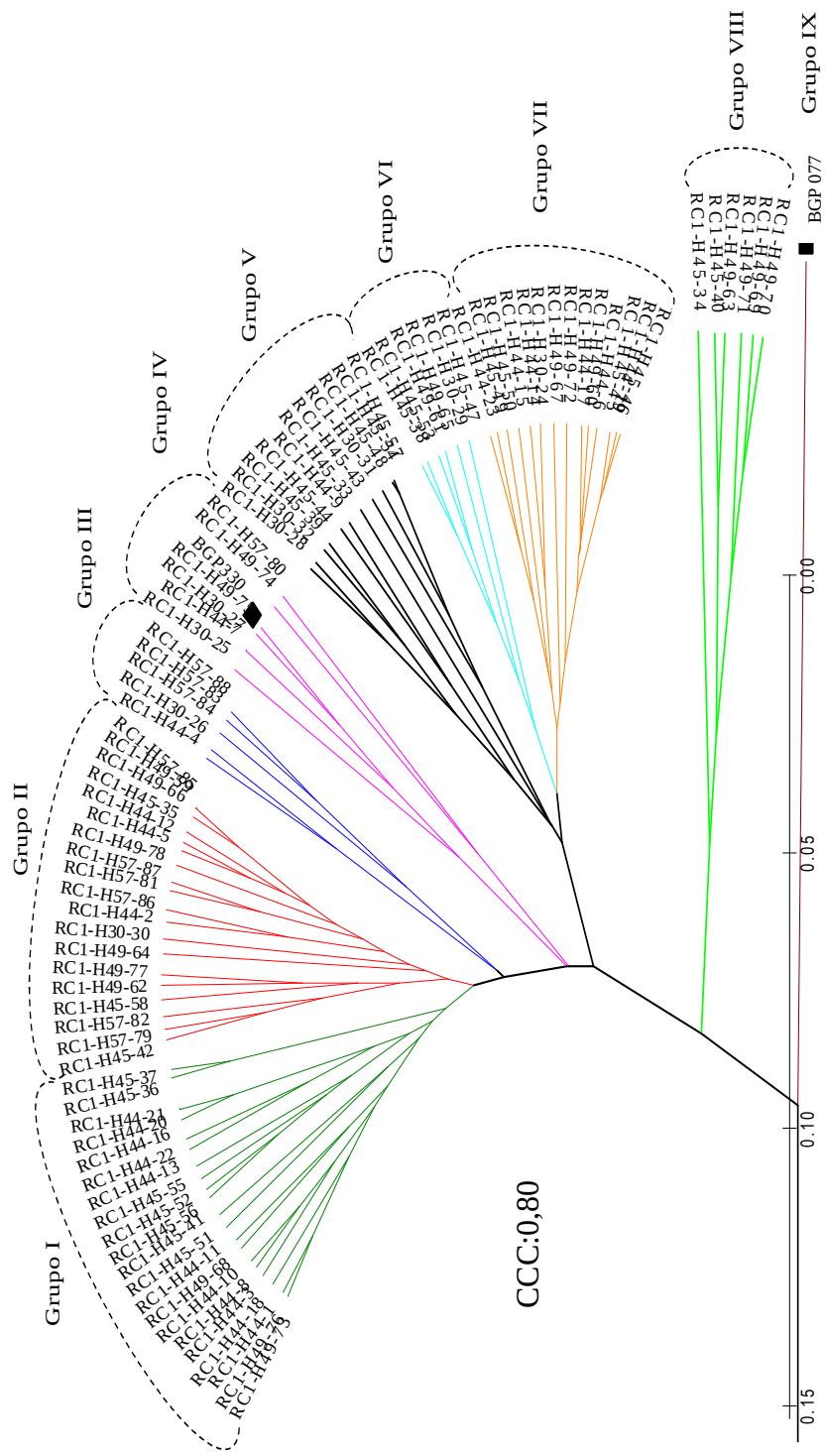


Figura 6. Dendrograma representando a dissimilaridade genética de híbridos interespecíficos (*P. cinninata* x *P. edulis* f. *flavicarpa*) de maracujazeiro com base na avaliação morfológica, utilizando-se a distância de Gower e método de agrupamento UPGMA.

A Figura 7 ilustra o processo de recuperação do genoma recorrente pelo programa de retrocruzamento com base nos dados de caracterização morfológica. De acordo com as características morfológicas, a progênie RC1-H49-75 foi a mais próxima com 0,95 de similaridade ao BGP330, enquanto que a RC1-H49-65, seguida da RC1-H45-50 foram as mais próximas do *P.cinnata*, ambas com 0,80 de similaridade. A proximidade genética entre os mesmos, principalmente com o parental *P. edulis* f. *flavicarpa*, já era esperada, pois nas progênes RC1 espera-se 75% do genoma do genitor recorrente e 25% do *P.cinnata*, sendo mais coerente com a genealogia dos materiais genéticos avaliados, visto que os caracteres morfológicos ao longo dos ciclos de retrocruzamento tentem a ser mais próximos do parental recorrente. Entretanto, quando se correlaciona essas progênes com a incidência de virose, verifica-se que as progênes RC1-H49-75 (66,7%) e RC1-H45-34 (73,3%) foram classificadas como suscetível ao CABMV e as progênes RC1-H49-65 (48,9%) e RC1-H45-50 (60%) foram classificadas como medianamente resistente e suscetível, respectivamente.

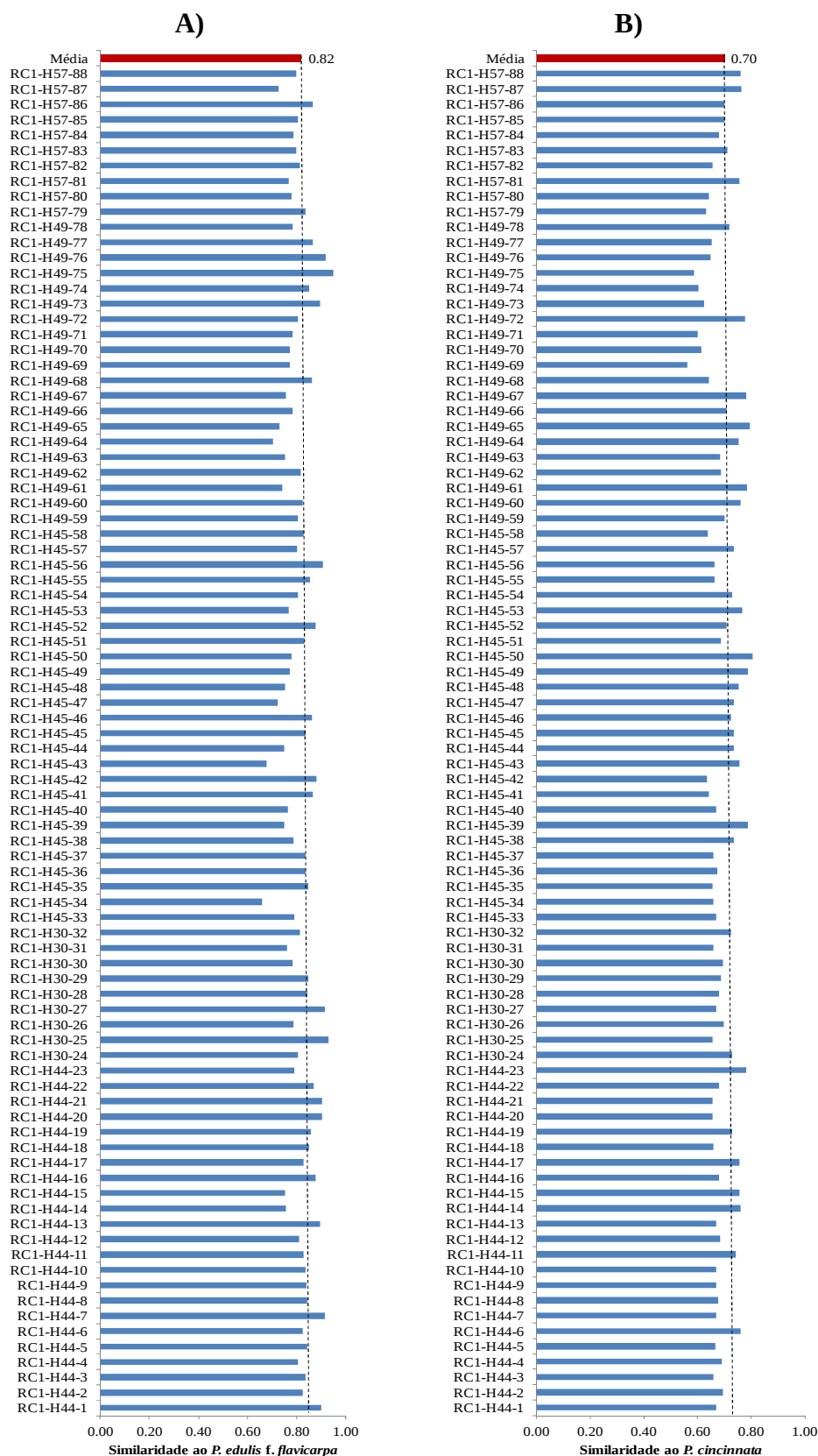


Figura 7. Similaridade das progênies RC1 de maracujazeiro ao genitor recorrente, *P. edulis f. flavicarpa* (A) e doador, *P. cinnata* (B) com base na avaliação morfológica.

A similaridade genética média estimada a partir dos dados morfológicos revelou que todas as progênes resultantes do cruzamento [(*P. cincinnata* x *P. edulis* f. *flavicarpa*) x *P. edulis* f. *flavicarpa*] foram mais similares ao parental *P. edulis* f. *flavicarpa* (Figura 8a). De maneira geral, a similaridade média entre os parentais em relação aos grupos das progênes das séries (RC1-H44, RC1-H30, RC1-H57, RC1-H45 e RC1-H49) é uma indicação de similaridade destes grupos ao genitor recorrente (BGP330), com destaque para o grupo da série RC1-H44 que apresentou similaridade de 0,84 (Figura 8b). Apesar de se obter sucesso na discriminação de gêneros e espécies de *Passiflora* com descritores morfológicos, os descritores qualitativos não conseguiram captar pequenas diferenças fenotípicas entre os indivíduos que possam discriminar os híbridos avaliados.

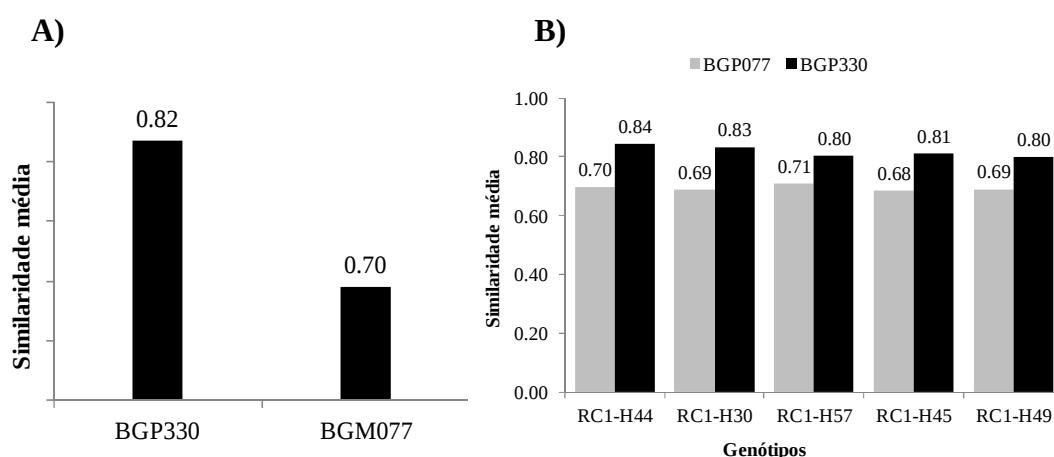


Figura 8. Similaridade média dos parentais (BGP077 e BGP330) em relação às progênes da primeira geração de retrocruzamento – RC1 (A) e relação a cada grupo de progênes (B) com base na avaliação morfológica.

A caracterização morfológica é uma etapa fundamental em programas de melhoramento de plantas, visto que permite estimar a variabilidade genética e indicar os melhores genótipos a serem utilizados. Este conhecimento possibilita ao melhorista explorar a diversidade, transferindo alelos favoráveis encontrados em espécies silvestres, como os responsáveis por resistência à doenças, por intermédio de cruzamento interespecífico.

4. CONCLUSÕES

A incidência de virose avaliada nas progênies híbridas indica que as progênies das séries RC1-H44 e RC1-H57, foram mais similares ao *P. cincinnata*, mais tolerantes ao CABMV e apresentam baixos valores de absorvância.

O híbrido RC1-H57-83 se destaca por apresentar menor índice de severidade do CABMV (15,6%), podendo ser utilizado como genitor feminino na geração RC2.

A caracterização morfológica nas progênies híbridas, possibilita a identificação de indivíduos com características mais similares aos parentais e com diferentes graus de tolerância ao CABMV.

5. REFERÊNCIAS

- FONSECA, K. G. DA.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNQUEIRA, K. P.; SILVA, M. S.; VAZ, C. D. E. F. Análise da recuperação do genitor recorrente em maracujazeiro-azedo por meio de marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, p. 145-153, 2009.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Produção agrícola municipal: Culturas temporárias e permanentes. 2014. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/>> Acesso em: 13/01/2016.
- JESUS, O. N. de; MARTINS, C. A. D.; OLIVEIRA, E. J. de; SOARES, T. L.; MACHADO, C. de F.; FALEIRO, F. G.; GIRARDI, E. A.; ARAÚJO, F. P. de; PEREIRA, T. N. S.; VIANA, A. P. **Descritores morfoagronômicos ilustrados para *Passiflora* spp.** Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2013. 65 p. il.
- JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; BERNACCI, L. C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Ed.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados. cap. 4, p. 81-107, 2005.
- LEÃO, R. M. K.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V.; REZENDE, R. O.; MATTOS, J. K. A.; MELO, B. Reação de progênies de maracujazeiro-azedo ao vírus do endurecimento do fruto (*Cowpea aphid-borne mosaic virus* – CABMV) em casa de vegetação. **Bioessence Journal**, v. 22, p. 87-92, 2006.
- KITAJIMA, E. W.; CHAGAS, C. M.; CRESTANI, O. A. Enfermidades de etiologia viral e associadas a organismos do tipo micoplasma em maracujazeiro no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 11, p. 409-432, 1986.
- MACIEL, S. C.; NAKANO, D. H.; REZENDE, J. A. M.; VIEIRA, M. L. C. Screening of passiflora species for reaction to *Cowpea aphid-borne mosaic virus* reveals an immune wild species. **Scientia Agricola**, v. 66, p. 414-418, 2009.
- MARUKI-UCHIDA, H.; KURITA, I.; SUGIYAMA, K.; SAI, M.; MAEDA, K.; ITO, T. The protective effects of piceatannol from passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds in

UVB-irradiated keratinocytes. **Biological Pharmaceutical Bulletin**, v. 36, n. 5, p. 845-849, 2013.

MCKINNEY, H. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v. 26, p. 195-218, 1923.

MORAES, M. C. DE.; GERALDI, I. O.; MATTA, F. DE P.; VIEIRA, M. L. C. Genetic and phenotypic parameter estimates for yield and fruit quality traits from a single wide cross in yellow passion fruit. **HortScience**, v. 40, p. 1978-1981, 2005.

NASCIMENTO, A. V. S.; SANTANA, E. N.; BRAZ, A. S. K.; ALFENAS, P. F.; PIORIBEIRO, G.; ANDRADE, G. P.; CARVALHO, M. G.; ZERBINI, F. M. *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) is widespread in passionfruit in Brazil and causes passionfruit woodiness disease. **Archives of Virology**, v.161, p. 21-34, 2006.

NOVAES, Q. S.; REZENDE, J. A. M. Possível aplicação do DAS-ELISA indireto na seleção de maracujazeiro tolerante ao *Passionfruit woodiness virus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, p. 76-79, 1999.

NOVAES, Q. S.; REZENDE, J. A. M. Selected mild strains of *Passion fruit woodiness virus* (PWV) fail to protect pre-immunized vines in brazil. **Scientia Agricola**, v. 60, n. 4, p. 699-708, 2003.

OLIVEIRA, E. J.; SOARES, T. L.; BARBOSA, C. J.; SANTOS-FILHO, H. P.; JESUS, O. N. Severidade de doenças em maracujazeiro para identificação de fontes de resistência em condições de campo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 485-492, 2013.

RESENDE, L. V.; MALUF, W. R.; FIGUEIRA, A. R.; RESENDE, J. T. V. Correlations between symptoms and DAS-ELISA values in two sources of resistance against tomato spotted wilt virus. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, n. 2, p. 135-139, 2000.

REZENDE, J. A. M. Práticas culturais para prevenção e convivência com as viroses do maracujazeiro. In: SAMPAIO, A. C.; FUMIS, T. F.; ROSSI, A. D.; ALMEIDA, A. M.; GARCIA, M. J. M. (Eds.). **Manejo no controle do vírus do endurecimento dos frutos (PWV) do maracujazeiro**, p.47-58, 2006.

SÃO JOSÉ, A. R.; BOMFIM, M. P.; HOJO, R. H.; ANGEL, D. N.; PIRES, M. M. Doenças do maracujazeiro. In: PIRES, M. M.; SÃO JOSÉ, A. R.; CONCEIÇÃO, A. O. (orgs) **Maracujá: avanços tecnológicos e sustentabilidade**. Ilhéus: Editus, p. 115-146, 2011.

SILVA, L. A. **Cowpea aphid-borne mosaic virus na cultura do maracujazeiro: avaliação da tolerância de acessos avançados e efeito nutricional**. Dissertação (Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) - São Paulo -SP, Instituto Biológico, 76p. 2012.

SOUSA, M. A. F. **Avaliação da produtividade, incidência e severidade de doenças em frutos de 17 genótipos de maracujazeiro-amarelo, cultivados no Distrito Federal**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Brasília - DF, Universidade de Brasília, 120p. 2005.

ZUCARELI, V.; FERREIRA, G.; AMARO, A. C. E.; ARAUJO, F. P. Fotoperíodo, temperatura e reguladores vegetais na germinação de sementes de *Passiflora cincinnata* Mast. **Revista Brasileira de sementes**, vol. 31, p. 106-114, 2009.

CAPÍTULO IV

SELEÇÃO DE PROGÊNIES RC1 DE MARACUJAZEIRO COM BASE EM MARCADORES iPBS

RESUMO

Apesar da crescente importância da cultura do maracujazeiro no Brasil, não existem genótipos resistentes ao CABMV disponíveis para plantio comercial. A hibridação interespecífica com recuperação do genitor recorrente associada às técnicas moleculares permite acelerar o processo de obtenção de novos genótipos. Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a recuperação do genoma recorrente em híbridos da primeira geração de retrocruzamento por meios de marcadores moleculares iPBS. Os dados binários foram empregados para estimar o número total de bandas amplificadas, locos polimórficos e a porcentagem de locos polimórficos de cada marcador e posteriormente foi obtido um dendrograma com base na matriz de similaridade com índice de coincidência simples e agrupamento por UPGMA. O poder de discriminação dos marcadores foi avaliado utilizando o Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC). Os marcadores retrotransposons avaliados originaram um total de 228 fragmentos iPBS, obtendo em média 20,7 por marcador. Deste total, 91,1% foram classificados como polimórficos, com uma média de 18,9 por marcador. O marcador mais informativo foi o iPBS 2221-31, pois obteve o maior conteúdo de informação polimórfica. Os marcadores iPBS foram capazes de distinguir progênies RC1 de seus parentais e quantificou a recuperação do genoma recorrente. As progênies RC1-H57-89 e RC1-H49-77 com maior porcentagem do genoma do genitor recorrente apresentam também maior severidade de virose. As progênies RC1-H57-85 e RC1-H57-91 por serem mais tolerantes ao CABMV são promissoras ao próximo ciclo de retrocruzamento. A análise de agrupamento revelou variabilidade genética entre as progênies RC1, o que demonstra potencial para serem utilizadas nas gerações seguintes de retrocruzamento.

Palavra-chave: *Passiflora edulis*, retrotransposons, marcadores moleculares, híbrido interespecífico.

CHAPTER IV

PASSION FRUIT OF HYBRID RC1 SELECTION BASED ON MARKERS IPBS

ABSTRACT

Despite the growing importance of passion fruit crop in Brazil, there are no genotypes resistant CABMV available for commercial planting. In this context, interspecific hybridization with recovery of recurrent parent associated with molecular techniques can speed up the process of obtaining new genotypes. Thus, the objective of this study was to evaluate the recovery of recurrent genome in hybrids of the first generation of backcrossing by means of molecular markers IPBS. The binary data (1 = the presence of band and 0 = no band) were obtained for each amplified sample, and used to construct a similarity matrix, from which the genetic distances between RC1 hybrids and the parents were estimated by coincidence index. Binary data were also used to estimate the total number of amplified bands, polymorphic loci and percentage of polymorphic loci of each marker. For the grouping, we used the array of dissimilarity the UPGMA method. The discriminatory power of the markers was performed using the Polymorphic information content (PIC). The evaluated retrotransposons markers originated a total of 228 IPBS fragments, obtaining an average of 20.7 per marker. Of this total, 91.1% were classified as polymorphic, with an average of 18.9 per marker. The most informative marker was the IPBS 2221-31, it had the highest polymorphic information content. The IPBS markers were able to differentiate hybrids RC1 of its parent and quantified the recovery of recurrent genome. The progenies RC1-H57-89 and RC1-H49-77 with the highest percentage of recurrent parent genome also have greater severity of virus. The RC1-H57-85 and H57-91-RC1 progenies to be more tolerant CABMV are promising the next backcross cycle. Cluster analysis revealed genetic variation among progenies RC1, which demonstrates the potential to be used in the following generations of backcrossing.

Keyword: *Passiflora* spp., retrotransposons, molecular markers, interspecific hybrid.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se como o mais importante centro de variações genéticas observadas no gênero *Passiflora*, pois se avalia que muitas espécies silvestres sejam originárias do país (BERNACCI et al., 2013; FERREIRA, 2005). O maracujazeiro amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa* Deg.) é a espécie de *Passiflora* mais produzida no Brasil e no mundo, sendo inclusive predominante nos pomares utilizados comercialmente no território nacional (MELETTI, 2011; HAFLE et al., 2009; BELLON et al., 2007). A crescente evolução na área de cultivo no Brasil nos últimos anos gerou produtividade 14,48 t ha⁻¹ (IBGE, 2014). Entretanto, a intensificação de produção não foi suficiente para atingir o potencial produtivo (48 t ha⁻¹) do maracujazeiro amarelo (FREITAS et al., 2011).

A baixa resistência aos principais problemas fitossanitários tem provocado a redução da área plantada e, consequentemente, interferindo diretamente na produtividade do maracujazeiro (MELETTI, 2011; OLIVEIRA et al., 2013). As principais variedades comerciais apresentam suscetibilidade às doenças causadas por vírus, principalmente ao do endurecimento dos frutos, cuja causa é conferida ao CABMV - *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (NASCIMENTO et al., 2004). Contudo, a utilização de genótipos melhorados e resistentes às doenças pode resultar em progresso da produtividade do maracujazeiro (NEVES et al., 2013; FREITAS et al., 2015; SANTOS et al., 2015).

O desenvolvimento de cultivares através de hibridação interespecífica com o uso de espécies silvestres como *P. cincinnata*, considerada resistente ao CABMV (OLIVEIRA et al., 2013), e cultivares comerciais podem ser utilizadas para aumentar os níveis de resistência e diminuir os prejuízos causados por este vírus (SANTOS et al., 2015). Este cruzamento pode ser promissor, pois as espécies *P. edulis*, *P. cincinnata* e seus híbridos interespecíficos apresentam correlações cariotípicas satisfatórias (AZEVEDO et al., 2011). Além do atributo resistência, *P. cincinnata* é encontrado em quase todas as regiões semiáridas do Nordeste brasileiro e apresenta produtividade, mesmo com escassez de água (ARAÚJO et al., 2008). Após a obtenção do híbrido interespecífico as progênies selecionadas para resistência são submetidas à várias gerações de retrocruzamento para recuperar o genoma do parental com as características agronômicas desejáveis.

O uso de marcadores moleculares pode aumentar a eficiência do processo de recuperação do genoma recorrente, pois identifica os indivíduos mais próximos geneticamente do genitor recorrente e antecipa o número de gerações necessárias para a transferência da característica de interesse (HOSPITAL; CHARCOSSET, 1997).

O uso de marcadores moleculares baseados em retrotransposons com regiões LTRs (*Long Terminal Repeats*) tem desempenhado um papel importante na caracterização genética de genótipos, pois os LTR são abundantes e bem distribuídos do genoma (KALENDAR et al., 2010; SCHULMAN et al., 2012). Sendo assim, a utilização de marcadores moleculares baseados em retrotransposons, como o iPBS (*inter-primer binding site*), pode ser uma ferramenta poderosa para o *fingerprinting* (GUO et al., 2014), pois permite estudo da variabilidade genética, através da quantidade elevada de polimorfismos, além de aumentar o número de informações e reduzir o tempo necessário para se alcançar resultados em programas de retrocruzamento (FERREIRA; RANGEL, 2011; FALEIRO, 2007). Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a recuperação do genoma recorrente em híbridos da primeira geração de retrocruzamento de *Passiflora* por meio de marcadores moleculares iPBS e selecionar genitores mais tolerantes ao CABMV.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 *Material vegetal*

Foram analisados 93 progênies do Programa de Melhoramento Genético do Maracujazeiro, sendo o BGP077 (*P. cincinnata* Mast.) como genitor feminino, o acessos BGP330 (*P. edulis* f. *flavicarpa* Deg.) genitor masculino. Esses acessos foram cruzados e da descendência foram selecionadas as progênies H44, H45, H49 e H57 para tolerância ou resistência à virose do endurecimento dos frutos. As progênies selecionadas foram retrocruzadas com o BGP330 dando origem a 91 híbridos da primeira geração de retrocruzamento – RC1, sendo nove progênies RC1-H30, 24 progênies da RC1-H44, 26 progênies da RC1-H45, 21 progênies da RC1-H49 e 11 progênies da RC1-H57 (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição dos 91 híbridos da primeira geração de retrocruzamento - RC1 e seus genitores feminino (M) e masculino (P) utilizados na análise molecular.

Nº	Plantas	Retrocruzamento	Nº	Plantas	Retrocruzamento
M	BGP077	<i>P. cincinnata</i>	46	RC1-H45-46	
P	BGP330	<i>P. edulis</i>	47	RC1-H45-47	
1	RC1-H44-1		48	RC1-H45-48	
2	RC1-H44-2		49	RC1-H45-49	
3	RC1-H44-3		50	RC1-H45-50	
4	RC1-H44-4		51	RC1-H45-51	
5	RC1-H44-5		52	RC1-H45-52	(F ₁ H45) x BGP330
6	RC1-H44-6		53	RC1-H45-53	
7	RC1-H44-7		54	RC1-H45-54	
8	RC1-H44-8		55	RC1-H45-55	
9	RC1-H44-9		56	RC1-H45-56	
10	RC1-H44-10		57	RC1-H45-57	
11	RC1-H44-11		58	RC1-H45-58	
12	RC1-H44-12	(F ₁ H44) x BGP330	59	RC1-H45-59	
13	RC1-H44-13		60	RC1-H49-60	
14	RC1-H44-14		61	RC1-H49-61	
15	RC1-H44-15		62	RC1-H49-62	
16	RC1-H44-16		63	RC1-H49-63	
17	RC1-H44-17		64	RC1-H49-64	
18	RC1-H44-18		65	RC1-H49-65	
19	RC1-H44-19		66	RC1-H49-66	
20	RC1-H44-20		67	RC1-H49-67	
21	RC1-H44-21		68	RC1-H49-68	
22	RC1-H44-22		69	RC1-H49-69	
23	RC1-H44-23		70	RC1-H49-70	(F ₁ H49) x BGP330
24	RC1-H44-24		71	RC1-H49-71	
25	RC1-H30-25		72	RC1-H49-72	
26	RC1-H30-26		73	RC1-H49-73	
27	RC1-H30-27		74	RC1-H49-74	
28	RC1-H30-28		75	RC1-H49-75	
29	RC1-H30-29	(F ₁ H30) x BGP330	76	RC1-H49-76	
30	RC1-H30-30		77	RC1-H49-77	
31	RC1-H30-31		78	RC1-H49-78	
32	RC1-H30-32		79	RC1-H49-79	
33	RC1-H30-33		80	RC1-H49-80	

Continuação (Tabela 1)

34	RC1-H45-34		81	RC1-H57-81	
35	RC1-H45-35		82	RC1-H57-82	
36	RC1-H45-36		83	RC1-H57-83	
37	RC1-H45-37		84	RC1-H57-84	
38	RC1-H45-38		85	RC1-H57-85	
39	RC1-H45-39	(F ₁ H45) x BGP330	86	RC1-H57-86	(F ₁ H57) x BGP330
40	RC1-H45-40		87	RC1-H57-87	
41	RC1-H45-41		88	RC1-H57-88	
42	RC1-H45-42		89	RC1-H57-89	
43	RC1-H45-43		90	RC1-H57-90	
44	RC1-H45-44		91	RC1-H57-91	
45	RC1-H45-45				

2.2 Extração de DNA genômico foliar

O DNA genômico dos genótipos foi extraído a partir de folhas jovens coletadas de plantas adultas mantidas a campo. Para os parentais (BGP077 e BGP331), foram coletadas folhas de dez plantas para constituir um pool de amostra dos referidos acessos. As folhas foram identificadas e acondicionadas em caixas de isopor contendo gelo. No laboratório, as amostras foram armazenadas em ultrafreezer a -80 °C até o momento da extração do DNA. Posteriormente, o DNA foi extraído empregando o protocolo adaptado de Doyle e Doyle (1990). Para cada indivíduo, macerou-se aproximadamente 500 mg de tecido vegetal com o auxílio de almofariz e pistilo em nitrogênio líquido. O macerado foi transferido para tubos do tipo eppendorf de 2 mL (os tubos foram preenchidos em 1/3 com material macerado), ao qual foi adicionado 1000 µL do tampão de extração pré-aquecido em banho-maria a 65 °C (2,0%, CTAB, 1,4 M NaCl, 0,1M Tris HCl pH 8,0, 20 mM EDTA, 0,8% β-mercaptoetanol, 2,0% PVP - Polivinilpirrolidona) e homogeneizado em vortex por volta de 5 segundos. Após incubação das amostras à 65 °C por 60 minutos (homogeneização a cada 10 minutos), as mesmas foram centrifugadas a 10.000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante (700 µL) foi transferido para novos tubos de 2 mL e adicionados 600 µL de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1), agitando suavemente os tubos por 5 minutos, seguido de centrifugação a 10.000 rpm por 5 minutos. As duas etapas anteriores foram repetidas com o intuito de obter melhor qualidade do material. O sobrenadante foi transferido para tubos de 1,5 mL devidamente identificados. Os ácidos nucleicos foram

precipitados pela adição de 360 μL do volume de álcool isopropílico gelado, e incubados por 30 minutos a -20°C . Em seguida, o precipitado foi sedimentado por centrifugação a 10.000 rpm por 8 minutos e o sobrenadante descartado. Procedeu-se a lavagem do precipitado por duas vezes com 500 μL de etanol a 70%, cada vez por 2 minutos e na terceira vez centrifugado a 10.000 por 5 minutos. Após o descarte do último sobrenadante, o pellet foi seco por 5 minutos à 37°C na estufa. Em seguida, o DNA foi ressuspenso em 200 μL de solução TE (Tris-EDTA - 10 mmol L^{-1} Tris-HCl, 1 mmol L^{-1} EDTA, pH 8,0) contendo 2 μL de RNase e incubado em estufa a 37°C por 30 minutos. Na sequência, adicionou-se 20 μL de NaCl 5M e 130 μL de álcool isopropílico gelado. A solução foi armazenada em geladeira por 15 minutos, para total precipitação do DNA e depois centrifugada a 10.000 rpm por 8 minutos e o sobrenadante descartado. Procedeu-se novamente a lavagem do precipitado por duas vezes com 500 μL de etanol a 70%, cada vez por 2 minutos e na terceira vez centrifugado a 10.000 rpm por 5 minutos. Após o descarte do etanol, o DNA foi seco por 30 minutos sob temperatura ambiente e com os tubos invertidos. Por fim, o DNA extraído foi ressuspenso em 50 μL de TE e armazenado em ultrafreezer a temperatura de -80°C .

2.3 Quantificação do DNA

A integridade e a concentração de DNA foram avaliadas em gel de agarose 1%, utilizando-se 5 μL do DNA extraído em 1 μL de corante azul de bromofenol (0,25% de bromofenol e 30% de glicerol), em tensão constante de 70 volts por 60 minutos. A quantidade de DNA foi estimada por análise comparativa das amostras com o DNA lâmbida em transluminador com luz ultravioleta, levando-se em consideração as intensidades das bandas reveladas pela coloração com brometo de etídio. Com base neste resultado, as amostras foram diluídas e padronizadas para a condição de trabalho de $5\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$.

2.4 Reação de amplificação do iPBS (Inter-Primer Binding Site)

Foram utilizados 11 marcadores iPBS (KALENDAR et al., 2010), indicados na literatura como polimórficos. Os marcadores utilizados foram: 2393-18, 2374-8, 2239-29, 2375-9, 2221-31, 2386-15, 2377-11, 2385-14, 2232-26, 2237-27 e 2238-28 (Tabela 2). A reação em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction* - PCR) foi realizada

conforme descrito por Kalendar et al. (2010), com modificações na temperatura de anelamento (Tabela 2). A reação de amplificação foi calculada para o volume final de 15µL, contendo 0,2 mM de dNTPs; 10 mM tampão (50 mM Tris-HCl, 20 mM KCl); 2 mM de MgCl₂; 1U de Taq polymerase (Invitrogen); 0,6 µM de primer iPBS; 25 ng de DNA e água ultrapura para completar o volume final da reação.

Tabela 2. Marcadores moleculares iPBS utilizados na caracterização de híbridos interespecíficos de maracujazeiro.

Primer iPBS	Sequência (5'→3')	Ta (°C)	Referência
2393-18	TACGGTACGCCA	51	Kalendar et al., (2010)
2374-8	CCCAGCAAACCA	55	Kalendar et al., (2010)
2239-29	ACCTAGGCTCGGATGCCA	55	Kalendar et al., (2010)
2375-9	TCGCATCAACCA	54	Kalendar et al., (2010)
2221-31	ACCTAGCTCACGATGCCA	55,6	Kalendar et al., (2010)
2386-15	CTGATCAACCCA	51	Kalendar et al., (2010)
2377-11	ACGAAGGGACCA	54	Kalendar et al., (2010)
2385-14	CCATTGGGTCCA	52	Kalendar et al., (2010)
2232-26	AGAGAGGCTCGGATACCA	55,4	Kalendar et al., (2010)
2237-27	CCCCTACCTGGCGTGCCA	55	Kalendar et al., (2010)
2238-28	ACCTAGCTCATGCCA	56	Kalendar et al., (2010)

As amplificações foram realizadas em termociclador programado para um ciclo de desnaturação de 3 minutos a 95 °C, seguido de 30 ciclos de desnaturação de 15 segundos a 95°C, 1 minuto de anelamento (Ta °C = Tabela 2), 1 minuto de extensão a 68 °C, uma extensão final a 72°C por 5 minutos e finalizando a 4°C. Após a reação de amplificação, foram adicionado 3µL de corante azul de bromofenol para cada amostra e aplicadas em gel de agarose a 2,5%, corado com brometo de etídio e submerso em tampão TBE 0,5x (45 mM Tris-borato, 1 mM EDTA) por 8 horas a 60 volts. O marcador molecular utilizado foi 100pb DNA Ladder (Ludwig Biotec). Finalizada a corrida, os géis de agarose foram visualizados à luz ultravioleta.

2.5 Avaliação da severidade da virose em progênies RC1

As avaliações dos sintomas da virose foram realizadas visualmente após a ocorrência natural da doença no campo, conforme descrito no capítulo 1 página 27. Foi

realizada uma avaliação a cada 15 dias no período de março a outubro de 2013, totalizando 15 avaliações em plantas com sete meses de idade. Utilizou-se o critério de sintomatologia visual, de acordo com a intensidade de manifestação dos sintomas em toda planta, segundo Oliveira et al. (2013). A severidade dos sintomas foliares foi avaliada por meio da escala de notas de 1 a 4, proposta por Novaes e Rezende (1999) e adaptada por Sousa (2005), sendo: 1= sem sintomas; 2= mosaico leve sem deformações foliares; 3= mosaico severo sem deformação foliar e 4= mosaico severo, bolhas e deformações foliares. Para cada planta avaliada foi calculado o índice de severidade das doenças segundo índice de McKinney (1923).

2.6 Análise dos dados

Os dados foram obtidos pela avaliação visual de bandas amplificadas mais evidentes nos 93 indivíduos. Os fragmentos iPBS foram calculados como dados binários (1= presença de banda e 0= ausência de banda) de cada amostra amplificada. Para cada primer foi calculado o número total de bandas amplificadas, locos polimórficos, porcentagem de locos polimórficos e o conteúdo de informação polimórfica (PIC) proposto por Roldán-Ruiz et al. (2000): $PIC_i = 2f_i(1-f_i)$. Em que PIC_i : conteúdo de informação polimórfica do marcador; f_i : frequência de fragmentos presentes por marcador; $1-f_i$: frequência de fragmentos ausentes por marcador.

Os dados binários também foram utilizados para a obtenção de matriz de similaridade utilizando o índice de coincidência simples e como método de agrupamento UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). As análises foram realizadas no programa GENES (CRUZ, 2013).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização dos marcadores moleculares iPBS

Os primers retrotransposons testados originaram 170 bandas iPBS com média de 15,5 bandas por primer. O maior número de bandas foi 21 para o iPBS 2375-9 e os menores foram para o iPBS2374-8 e iPBS2232-26 com dez bandas amplificadas (Tabela 3). Deste total de marcadores obtidos, 151 (88,8%) foram classificados como polimórficos, com uma média de 13,7 fragmentos polimórficos por marcador.

Os marcadores 2393-18, 2239-29, 2375-9, 2232-26, 2237-27 e 2238-28 apresentaram bandas monomórficas entre os genótipos testados. Fonseca et al. (2009) relataram que a origem dos indivíduos utilizados em cruzamentos interespecíficos é um fator importante na alta porcentagem de marcadores polimórficos. A alta taxa de polimorfismo é um indicativo de que o uso de marcadores moleculares dominantes, baseados em retrotransposons, foi eficaz na genotipagem das progênes de *Passiflora*. Segundo Kalendar et al. (1999) a disposição ao acaso de retrotransposons no genoma, quantidade e dispersão dos elementos transponíveis nos cromossomos são pontos importantes para a identificação e descrição de genótipos.

Não foram encontrados estudos publicados utilizando marcadores iPBS para caracterizar acessos ou híbridos interespecíficos de *Passiflora*. Entretanto, os resultados obtidos neste estudo corroboram com estudos realizados por Guo et al. (2014), que ao analisarem a diversidade molecular de variedades de videira (*Vitis vinifera* L) com base em 15 marcadores iPBS, encontraram alta porcentagem de bandas polimórficas (86%). Mehmood et al. (2013) produziram informações úteis sobre as relações genéticas entre os acessos de goiabeira (*Psidium guajava* L.), utilizando seis marcadores iPBS e um elevado grau de polimorfismo (85,7%).

Em estudos realizados com marcadores moleculares de natureza dominante RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) e AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) em *Passiflora*, ressalta-se a existência de variabilidade em relação à quantidade de fragmentos amplificados. Cerqueira-Silva et al. (2010), ao estimarem a diversidade genética de 20 acessos de *P. edulis* através da utilização de 16 iniciadores RAPD, obtiveram um total de 92 bandas, sendo 62% polimórficas, observando-se uma média de 5,7 fragmentos por iniciador. Bellon et al. (2014) avaliaram a variabilidade genética de 32 híbridos intra e interespecífico de maracujazeiro através da utilização de nove iniciadores RAPD, observaram 177 bandas amplificadas (95%). Em estudo do efeito da diversidade genética em genótipos de *Passiflora* obtidos por diferentes métodos de melhoramento, Costa et al. (2012), utilizando-se 23 iniciadores ISSR, conseguiram 266 fragmentos amplificados, sendo que 97% foram polimórficos. Santos et al. (2011) ao estimar a diversidade genética em 34 acessos de *P. edulis* utilizando 18 iniciadores ISSR obtiveram 98% de bandas polimórficas. Por outro lado, ao avaliarem o polimorfismo

por meio de marcadores dominantes AFLP, Pereira et al. (2013) obtiveram 18% de polimorfismo em maracujazeiro doce (*P. alata*). Ortiz et al. (2012) em estudo da variabilidade genética em maracujazeiro roxo de plantações comerciais na Colômbia, conseguiram 7% de fragmentos polimórficos. Ainda neste contexto, Cerqueira-Silva et al. (2014) e Penha et al. (2013) em estudos visando a caracterização de maracujazeiro, através do uso de marcadores microssatélites SSR codominante, apontaram baixo polimorfismo, com uma média abaixo de 20%. Sendo assim, os resultados encontrados com uso de marcadores dominantes derivados de retrotransposons e com alto grau de polimorfismo, observado neste estudo, foram eficazes quando comparados aos trabalhos citados, confirmando a eficiência dos mesmos para a caracterização de híbridos interespecíficos de *Passiflora*.

O conteúdo de informação polimórfica (PIC) variou de 0,347 primer 2221-31, e o menor valor (0,173) para o primer 2385-14 (Tabela 3). A média calculada foi de 0,237, valor esse inferior ao encontrado por Mehmood et al. (2013) e Guo et al. (2014) com médias de 0,244 e 0,445, respectivamente para as fruteiras videira e goiabeira. Segundo Hoffmann e Barroso (2006), os valores de conteúdo de informação polimórfica serão mais informativos quando forem próximos de 0,5; moderadamente informativos os compreendidos entre 0,25 e 0,5 e pouco informativos os inferiores a 0,25. Os marcadores 2221-31 e 2377-11 foram os mais polimórficos e mais informativos, pois apresentaram os maiores valores de PIC de 0,347 e 0,302, respectivamente (Figura 1; Tabela 3).

Tabela 3. Características dos 11 marcadores moleculares iPBS utilizados em 91 híbridos RC1 e de seus genitores.

Primer iPBS	Total bandas amplificadas	Locos polimórficos	Taxa de polimorfismo (%)	Valor médio PIC*
2393-18	17	12	70,6	0,179
2374-8	10	10	100	0,183
2239-29	15	13	86,7	0,264
2375-9	21	17	81,0	0,221
2221-31	20	20	100	0,347
2386-15	12	12	100	0,246
2377-11	16	16	100	0,302
2385-14	12	12	100	0,173
2232-26	10	5	50,0	0,192
2237-27	18	16	88,9	0,259
2238-28	19	18	94,7	0,244
Total	170	151	-	-
Média	15,5	13,7	88,35	0,237

*PIC: Conteúdo de informação polimórfica.

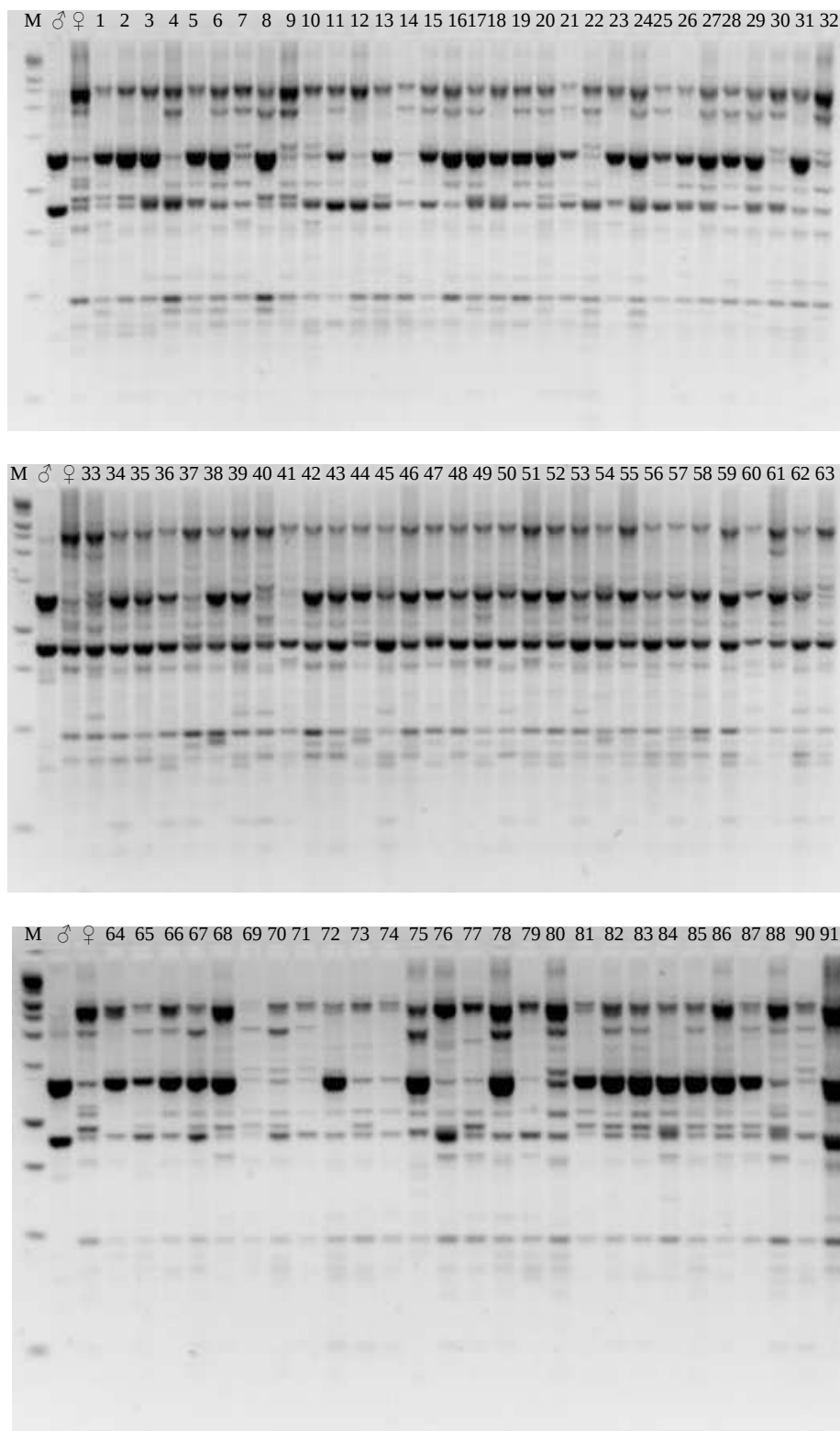


Figura 1. Perfil eletroforético resultante da técnica iPBS em 91 híbridos RC1 e seus genitores de *Passiflora* utilizando o iniciador iPBS2221-3. M: marcador 100pb Ladder. ♂: Genitor masculino (*P. edulis* f. *flavicarpa*). ♀: Genitor feminino (*P. cincinnata*).

Na Figura 2 observa-se que 69% das progênies apresentaram bandas amplificadas comuns a ambos os genitores (1-1). Por outro lado, 40% das progênies tinham a presença de banda, embora ausente (0-0) nos dois parentais. O maracujazeiro é uma espécie alógama e heterozigota e cruzamento interespecífico, pode resultar no aparecimento dos genótipos homizogotos recessivos nas progênies. Neste caso os marcadores iPBS, que são marcadores dominantes, não amplificam estes genótipos. Esses marcadores podem amplificar regiões entre e dentro de retrotransposons. Sabe-se que em hibridação interespecífica (SHAN et al., 2005; KASHKUSH; KHASDAN 2007), ataque de patógenos (GRANDBASTIEN et al., 1997) como infecção viral (DELLAPORTA et al., 1984) promove a ativação de elementos transponíveis. Desta forma, se tais fatos tiverem ocorrido poderiam promover o surgimento de novas marcas moleculares. Além disso, hibridações dessa natureza podem resultar em rearranjo do genoma (KALINKA et al., 2010) e perda cromossômica para a estabilização do genoma (MORENO et al., 2014; CHAUDHARY et al., 2013; ANDRADE-VIEIRA et al., 2013).

A eliminação do material genético ocorre na meiose, possivelmente pela ausência de homologia cromossômica, segregação cromossômica irregular ou por diferenças de tempo na replicação entre espécies parentais levando a quebras e rearranjo do genoma (ABBASI et al., 2010; MENDES et al., 2007; MORENO et al., 2014). Além disso, sabe-se que na presença de estresse bióticos e ou abióticos pode ocorrer a ativação dos retrotransposons e a indução a expressão de genes adjacentes aos retrotransposons (CAPY et al., 2000; POURTAU et al., 2003; MELAYAH et al., 2001). Esses eventos podem atuar isoladamente ou em conjunto para explicar os resultados obtidos. Dessa forma, estudos citogenéticos e moleculares são imprescindíveis para elucidar tais observações.

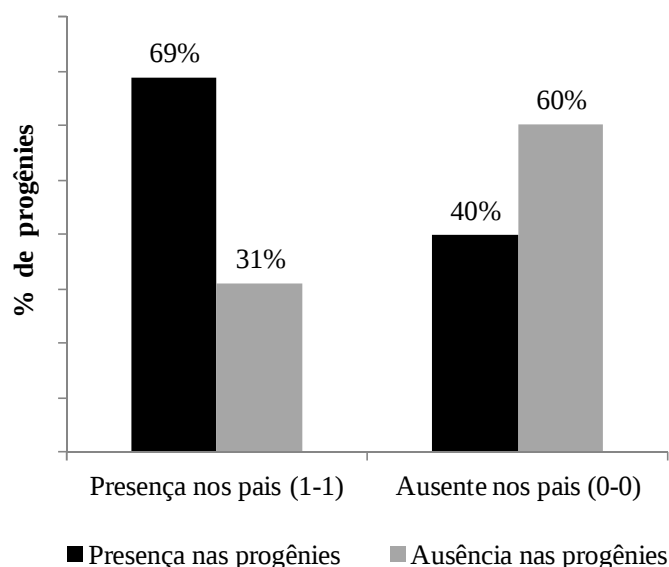


Figura 2. Percentagem de progênies com pares de fragmentos amplificados presentes (1-1) ou ausentes (0-0) em ambos os genitores e presente ou ausente nas progênies RC1.

Similaridade das progênies RC1 com parentais

A similaridade genética média estimada a partir dos dados moleculares revelou que todas as progênies híbridas resultantes do retrocruzamento [(*P. cincinnata* x *P. edulis* f. *flavicarpa*) x *P. edulis* f. *flavicarpa*] foram mais similares (0,66) ao parental masculino *P. edulis* f. *flavicarpa* (BGP330) (Figura 3A e 4B). A proximidade genética entre os híbridos da primeira geração de retrocruzamento e o genitor *P. edulis* f. *flavicarpa* já era esperado, pois espera-se em 75% de recuperação do genoma do genitor recorrente e 25% do genitor doador. O menor valor de similaridade genética (0,26) foi obtido entre as espécies *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. cincinnata*, refletindo o grau de distância genética dos parentais. De maneira geral, a similaridade média entre os parentais em relação aos grupos das progênies das séries (RC1-H44, RC1-H30, RC1-H45, RC1-H49 e RC1-H57) indica similaridade destes grupos ao genitor recorrente (BGP330), com destaque para o grupo da série RC1-H57 que apresentou similaridade de 0,69 (Figura 3B).

De acordo com as variações individuais da similaridade das progênies, observa-se que alguns indivíduos apresentam proporções genômicas dentro do esperado e outros inferiores quando comparadas aos genitores. Esse fato indica que, a similaridade

genética de cada híbrido com o genitor recorrente *P. edulis* f. *flavicarpa* depende do número de gerações de retrocruzamento e do nível de recombinação à medida que se avança nas etapas subsequentes do melhoramento. A progênie RC1-H49-76 foi a mais próxima (0,49) do genitor feminino *P.cinnata* (BGP077), enquanto que a RC1-H57-89 foi a mais próxima (0,77) do genitor masculino *P. edulis* f. *flavicarpa* (BGP330) (Figura 4A e 4B).

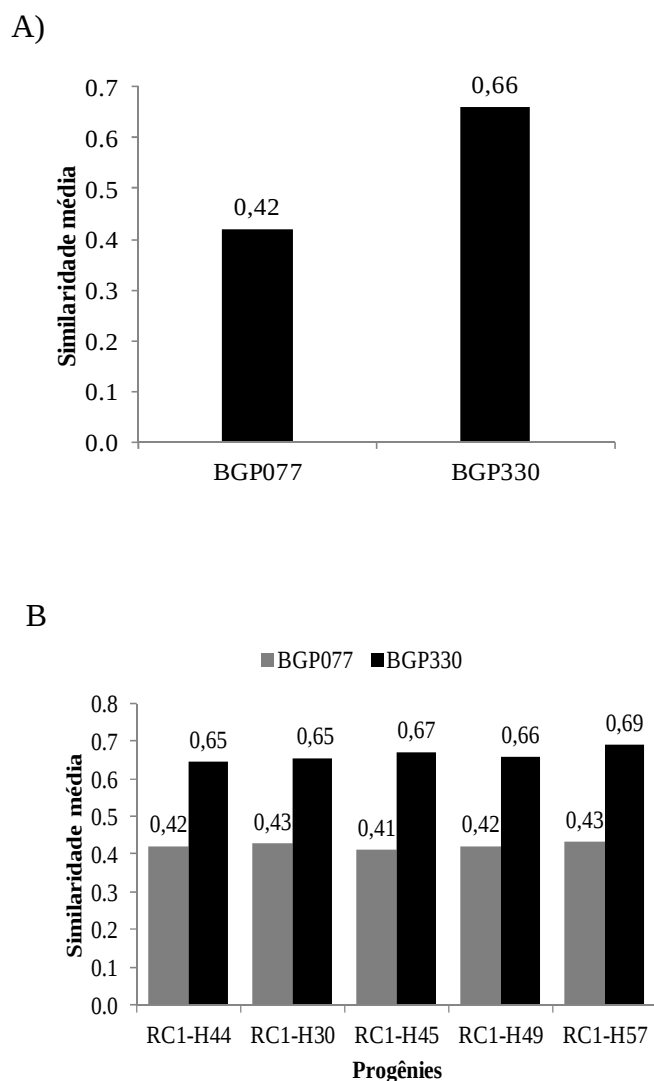


Figura 3. A) Similaridade média dos parentais (BGP077 e BGP330) em relação às progênes da primeira geração de retrocruzamento com base em marcadores moleculares iPBS. B) Similaridade média dos parentais (BGP077 e BGP330) em relação aos grupos de progênes da primeira geração de retrocruzamento com base em marcadores moleculares iPBS

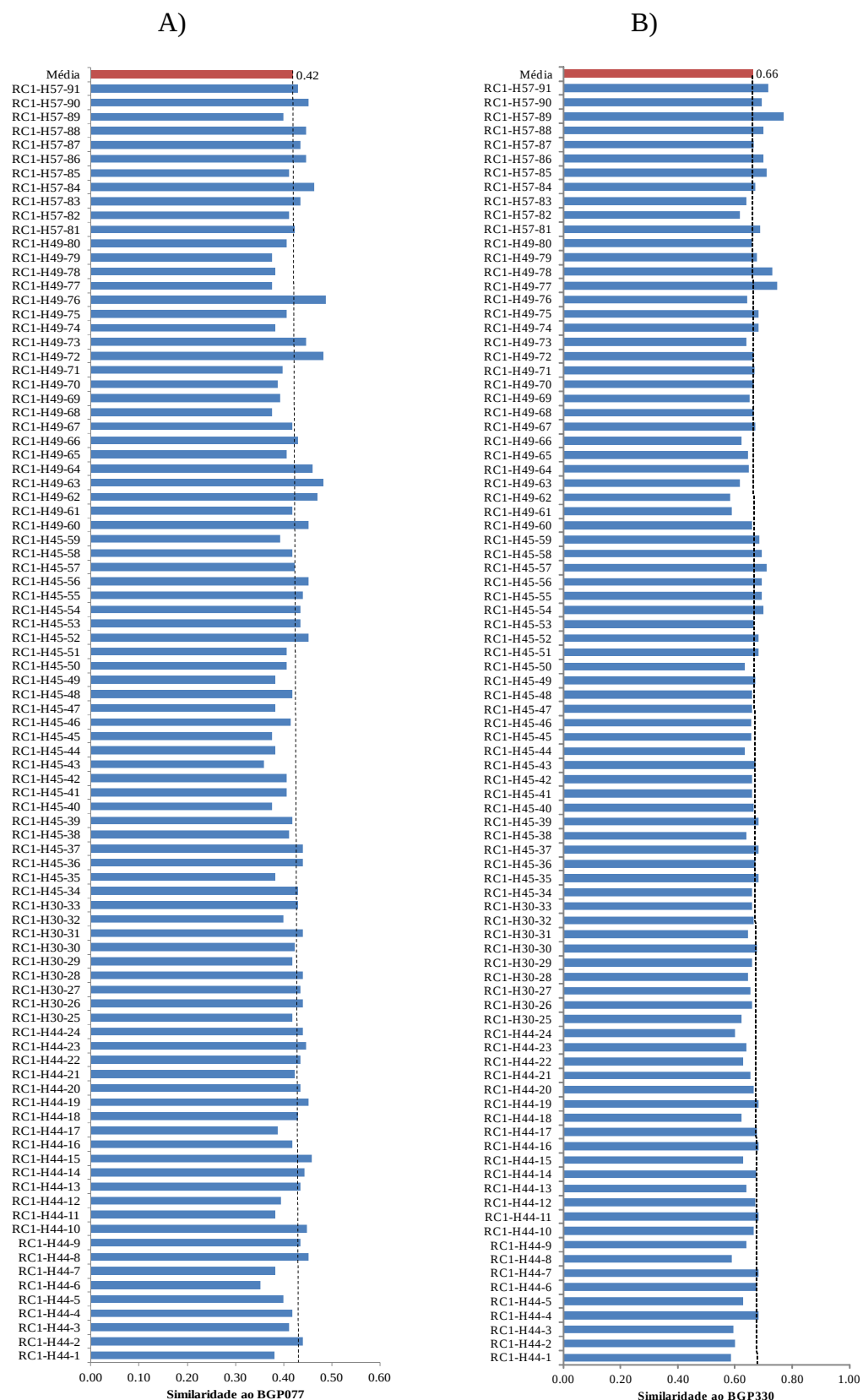


Figura 4. Similaridade das progênes RC1 de maracujazeiro ao genitor doador, BGP077 (A) e recorrente, BGP330 (B) com base no índice de coincidência simples, derivados de marcadores moleculares iPBS.

Do total de progênies avaliadas, a progênie RC1-H57-89 obteve porcentagem de recuperação do genoma recorrente (*P. edulis* f. *flavicarpa*) em torno de 0,77 (Tabela 4). A escolha de progênies com maior similaridade ao *P. edulis* f. *flavicarpa* pode reduzir o número de gerações necessárias para recuperar boa parte do seu genoma (MORAES et al, 2005; FONSECA et al, 2009), mas por outro lado, pode consequentemente conferir maior susceptibilidade à virose do endurecimento dos frutos. Essa observação pode ser verificada no caso das progênies RC1-H57-89 e RC1-H49-77 que apresentaram mais similaridade, porém com alta severidade da doença com índice de 57,8% e 66,7%, respectivamente. (Tabela 4). Entretanto, as progênies RC1-H57-91, RC1-H49-68 e RC1-H57-85 se destacaram por apresentarem menor severidade do CABMV com 22,2%, 17,8% e 15,6%, respectivamente e com similaridade genética ao genitor recorrente de 0,72, 0,66 e 0,71, respectivamente. Este resultado indica que as menores severidades existentes entre as progênies com similaridade em torno de 0,70 ao genitor recorrente, contribuem para a seleção de híbridos com maior tolerância ao CABMV a próxima geração de retrocruzamento.

Tabela 4. Similaridade genética com o genitor recorrente BGP330 pelo coeficiente de coincidência simples dos marcadores iPBS e índice de severidade do CABMV (%) entre parentais e progênies RC1.

Progênie	Similaridade	Índice de doença (%)	Progênie	Similaridade	Índice de doença (%)
BGP077	-	36,0	RC1-H49-72	0,66	82,2
BGP330	-	66,1	RC1-H57-87	0,66	37,8
RC1-H57-89	0,77	57,8	RC1-H44-10	0,66	22,2
RC1-H49-77	0,75	66,7	RC1-H30-26	0,66	28,9
RC1-H49-78	0,73	60,0	RC1-H30-29	0,66	40,0
RC1-H57-91*	0,72	22,2	RC1-H30-33	0,66	80,0
RC1-H45-57	0,71	28,9	RC1-H45-34	0,66	60,0
RC1-H57-85*	0,71	15,6	RC1-H45-41	0,66	73,3
RC1-H45-54	0,70	66,7	RC1-H45-42	0,66	62,2
RC1-H57-86	0,70	40,0	RC1-H45-47	0,66	60,0
RC1-H57-88	0,70	40,0	RC1-H45-48	0,66	62,2
RC1-H45-55	0,69	46,7	RC1-H49-60	0,66	66,7
RC1-H45-56	0,69	71,1	RC1-H49-80	0,66	62,2
RC1-H45-58	0,69	33,3	RC1-H45-45	0,66	84,4
RC1-H57-90	0,69	22,2	RC1-H45-46	0,66	26,7

Continuação (Tabela 4)

RC1-H57-81	0,69	66,7	RC1-H44-21	0,65	51,1
RC1-H45-59	0,69	24,4	RC1-H30-27	0,65	40,0
RC1-H44-4	0,68	66,7	RC1-H49-69	0,65	71,1
RC1-H44-7	0,68	60,0	RC1-H49-64	0,65	93,3
RC1-H44-11	0,68	40,0	RC1-H30-28	0,65	55,6
RC1-H44-16	0,68	42,2	RC1-H30-31	0,65	42,2
RC1-H44-19	0,68	55,6	RC1-H49-65	0,65	31,1
RC1-H45-35	0,68	73,3	RC1-H49-76	0,64	66,7
RC1-H45-37	0,68	66,7	RC1-H44-9	0,64	37,8
RC1-H45-39	0,68	71,1	RC1-H44-13	0,64	26,7
RC1-H45-51	0,68	60,0	RC1-H44-23	0,64	31,1
RC1-H45-52	0,68	55,6	RC1-H45-38	0,64	66,7
RC1-H49-74	0,68	75,6	RC1-H49-73	0,64	55,6
RC1-H49-75	0,68	73,3	RC1-H57-83	0,64	40,0
RC1-H44-6	0,68	60,0	RC1-H45-44	0,64	60,0
RC1-H44-17	0,68	66,7	RC1-H45-50	0,64	37,8
RC1-H30-30	0,68	73,3	RC1-H44-5	0,63	51,1
RC1-H49-79	0,68	22,2	RC1-H44-15	0,63	66,7
RC1-H44-14	0,68	66,7	RC1-H44-22	0,63	31,1
RC1-H44-12	0,67	46,7	RC1-H44-18	0,62	46,7
RC1-H45-36	0,67	57,8	RC1-H30-25	0,62	66,7
RC1-H45-43	0,67	73,3	RC1-H49-66	0,62	48,9
RC1-H45-49	0,67	71,1	RC1-H49-63	0,62	60,0
RC1-H49-67	0,67	37,8	RC1-H57-82	0,62	64,4
RC1-H57-84	0,67	66,7	RC1-H44-2	0,60	42,2
RC1-H49-71	0,67	93,3	RC1-H44-24	0,60	28,9
RC1-H44-20	0,66	40,0	RC1-H44-3	0,59	53,3
RC1-H30-32	0,66	42,2	RC1-H44-8	0,59	37,8
RC1-H45-40	0,66	86,7	RC1-H49-61	0,59	33,3
RC1-H45-53	0,66	46,7	RC1-H44-1	0,59	60,0
RC1-H49-68*	0,66	17,8	RC1-H49-62	0,58	66,7
RC1-H49-70	0,66	86,7	-	-	-

* Progênie RC1 selecionadas.

De acordo com o dendrograma obtido pelo método hierárquico UPGMA, com base em marcadores moleculares iPBS, é possível distinguir a formação de oito grupos. Os genitores BGP077 e BGP330 ficaram isolados nos grupos VII e VIII, respectivamente (Figura 5). O outgroup Grupo IV é representado pela progênie RC1-H49-76, sendo o mais divergente em relação às demais progênie. Houve a formação de um grande grupo (Grupo VI) constituído por todas as 32 progênie da série RC1-H44, concentrando 35,2% do total dos indivíduos analisados, seguido pelos Grupos III

(28,6% progênies), sendo 57,7% da série RC1-H49 e 43,3% RC1-H57 e I (24,5% progênies), sendo todos os indivíduos da série RC1-H45. No Grupo II, foram agregadas cinco progênies da série RC1-H49 e a progênie RC1-H45-59 (Figura 5).

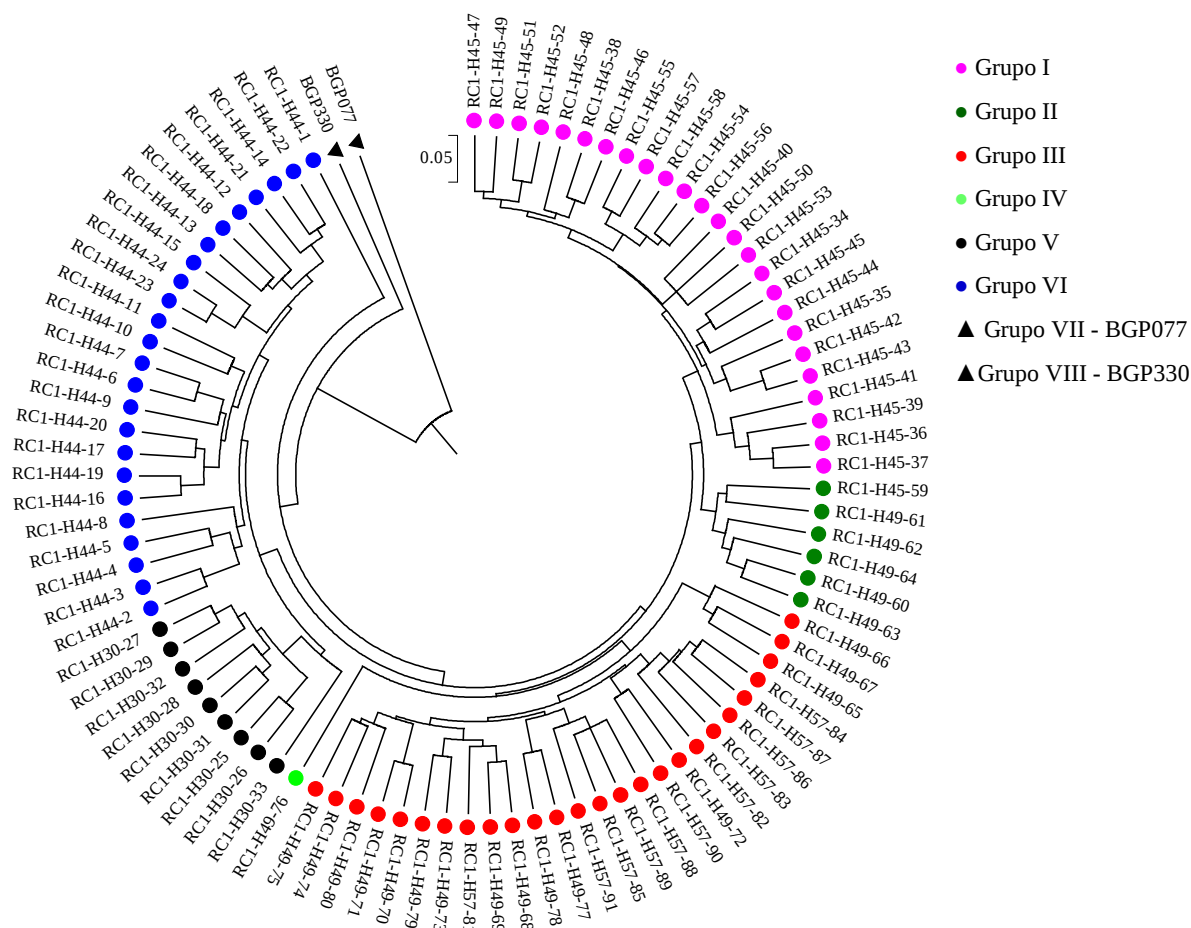


Figura 5. Dendrograma de dissimilaridade entre as progênies RC1 e seus genitores obtido pelo índice de coincidência simples e método de agrupamento UPGMA com base em marcadores moleculares iPBS.

Com base nos resultados obtidos pelo dendrograma, podemos observar a formação de vários subgrupos, confirmando a existência de variabilidade genética nas progênies híbridas mesmo possuindo o *P. edulis* f. *flavicarpa* como parental. O acesso a essas informações poderá prever quais híbridos dispõem de tolerância genética ao CABMV e com maior similaridade ao parental recorrente, visando reduzir o número de retrocruzamentos necessários e orientar futuras estratégias para o programa de melhoramento do maracujazeiro.

4. CONCLUSÕES

Os marcadores iPBS, baseado em retrotransposons, foram capazes de distinguir progênies RC1 de seus parentais e quantificou a recuperação do genoma recorrente.

As progênies RC1-H57-89 e RC1-H49-77 com maior percentagem do genoma do genitor recorrente apresentam também maior severidade de virose.

As progênies RC1-H57-85 e RC1-H57-91 por serem mais tolerantes ao CABMV e próximas ao *P. edulis* f. *flavicarpa* são promissoras ao próximo ciclo de retrocruzamento.

A análise de agrupamento revelou variabilidade genética entre as progênies RC1, o que demonstra potencial para serem utilizadas nas gerações seguintes de retrocruzamento.

5. REFERÊNCIAS

- ABBASI, F.; AHMAD, H.; PERVEEN, F.; INAMULLAH, M.; SAJID, M.; BRAR, D. Assessment of Genomic Relationship between *Oryza sativa* and *Oryza australinesis*. **African Journal of Biotechnology**, v.9, p.1312-1316, 2010.
- ANDRADE-VIEIRA, L. F.; REIS, G. B.; TORRES, G. A.; OLIVEIRA, A. R.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; PEREIRA, A. V.; DAVINE, L. C. Biparental Chromosome Elimination in Artificial Interspecific Hybrids of *Pennisetum purpureum* and *Pennisetum glaucum*. **Crop Science**, v. 53, p. 1917–1924, 2013.
- ARAÚJO, F. P.; SILVA, N.; QUEIROZ, M. A. Genetic divergence among *Passiflora cincinnata* mast accessions based on morphoagronomic descriptors. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p. 723-730, 2008.
- AZEVEDO, T. P.; COELHO, M. S. E.; ARAÚJO, F. P.; MELO, N. F. Citogenética de parentais e híbridos interespecíficos de *Passiflora edulis* Sims x *Passiflora cincinnata* Mast.. In: VI Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Semiárido, 2011, Petrolina. Documentos (Embrapa Semi-Árido. Online). Petrolina: Embrapa Semiárido, p. 155-160, 2011.
- BERNACCI, L. C., CERVI, A. C., MILWARD, A. M. A., NUNES, T. S., IMIG, D. C., MEZZONATO, A. C. (2013) Passifloraceae In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB128567>
- BELLON, G.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FUHRMANN, E. Variabilidade genética de genótipos elite de maracujazeiro, obtidos em programas de retrocruzamento envolvendo espécies silvestres e comerciais com base em marcadores RAPD. **Bioscience Journal**, v. 30, p. 1692-1697, 2014.
- BELLON, G.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, K. P.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SANTOS, E. C.; BRAGA, M. F.; GUIMARÃES, C. T. Variabilidade genética de acessos silvestres e comerciais de *Passiflora edulis* Sims., com base em marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 1, p. 124-127, 2007.
- CAPY, P.; GASPERI, G.; BIEMONT, C.; BAZIN, C. Stress and transposable elements: co-evolution or useful parasites?. **Heredity**, v. 85, p.101-106, 2000.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; SANTOS, E. S. L.; VIEIRA, J. G. P.; MORI, G. M.; JESUS, O. N.; CORREA, R. X.; SOUZA, A. P. New microsatellite markers for wild and commercial species of *Passiflora*. (Passifloraceae) and cross-amplification. **Applications in Plant Sciences**, n. 2, p.1–5, 2014.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; CARDOSO-SILVA, C. B.; SANTOS, E. S. L.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S.; PEREIRA, A. S.; OLIVEIRA, A. C.; CORRÊA, R. X. Genetic diversity in wild species of passion fruit (*Passiflora trintae*) based on molecular markers. **Genetics Molecular Research**, v. 9, p. 2123-2130, 2010.

CHAUDHARY, H.; TAYENG, T.; KAILA, V.; RATHER, S. Enhancing the Efficiency of Wide Hybridization Mediated Chromosome Engineering for High Precision Crop Improvement with Special Reference to Wheat × *Imperata cylindrical* System. **Nucleus**, v.56, p.7-14, 2013.

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

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

DELLAPORTA, S. L.; CHOMET, P. S.; MOTTINGER, J. P.; WOOD, J. A.; YU, S. M.; HICKS, J. B. Endogenous transposable elements associated with virus infection in maize. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**. v.49, p.321-328, 1984.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, p. 13-15, 1990.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; JUNQUEIRA, K. P.; BELLON, G.; FONSECA, K. G.; PEIXOTO, J. R. Cruzamento interespecífico e retrocruzamentos visando á resistência do maracujazeiro a doenças. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 4., 2007, São Lourenço. **Anais...**

FERREIRA, F. R. Recursos genéticos de Passiflora. In: Faleiro, F. G.; Junqueira, N. T. V.; Braga, M. F. (Eds.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina, DF: **Embrapa Cerrados**, Capítulo 2, p. 41-51, 2005.

FERREIRA, M. E.; RANGEL, P. H. N. Aporte biotecnológico ao pré- melhoramento vegetal. In: LOPES, M. A.; FÁVERO, A. P.; FERREIRA, M. A. J. F.; FALEIRO, F. G.; FOLLE, S. M.; GUIMARÃES, E. P. Pré-melhoramento de plantas. Estado da arte e experiências de sucesso. Embrapa Informações Tecnológicas, Brasília, p. 59-84, 2011.

FONSECA, K. G.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SILVA, M. S.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, K. P.; VAZ, C. F. Análise da recuperação do genoma recorrente em maracujazeiro-azedo com base em marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, p. 145-153, 2009.

FREITAS, J. C. O.; VIANA, A. P.; SANTOS, E. A.; SILVA, F. H. L.; PAIVA, C. L.; RODRIGUES, R.; SOUZA, M. M.; EIRAS, M. Genetic basis of the resistance of a passion fruit segregant population to *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). **Tropical Plant Pathology**, v. 1, p. 1-7, 2015.

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

GRANDBASTIEN, M. A.; LUCAS, H.; MOREL, J. B.; MHIRI, C.; VERNHETTES, S.; CASACUBERTA, J. M. The expression of the tobacco Tnt1 retrotransposon is linked to plant defense responses. **Genetica**, v.100, p.241-252, 1997.

GUO, D. L.; ZHANG, J. Y.; LIU, C. H.; ZHANG, G. H.; LI, M.; ZHANG, Q. Genetic variability and relationships between and within grape cultivated varieties and wild species based on SRAP markers. **Tree Genetics e Genomes**, n. 8, p.789-800, 2012.

HAFLE, O. M.; RAMOS, J. D.; LIMA, L. C. de O.; FERREIRA, E. A.; MELO, P. C. de. Produtividade e qualidade de frutos do maracujazeiro-amarelo submetido à poda de ramos produtivos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, p. 763-770, 2009.

HOFFMANN, L. V.; BARROSO, P. A. V. Marcadores moleculares como ferramentas para estudos de genética de plantas. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006 (Série documentos).

HOSPITAL, F.; CHARCOSSET, A. Marker-assisted introgression of quantitative trait locos. **Genetics**, n. 147, p. 1469-1485, 1997.

INSTITUO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Produção agrícola municipal: Culturas temporárias e permanentes. 2014. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>> Acesso em: 13/01/2016.

KALENDAR, R.; ANTONIUS, K.; SMYKAL, P.; SCHULMAN, A. H. iPBS: A universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 121, p.1419-1430, 2010.

KALENDAR, R.; GROB, T.; REGINA, M.; SUONIEMI, A.; SCHULMAN, A. H. IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA Wngerprinting techniques. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 98, p. 704-711, 1999.

KALINKA, A.; ACHREM, M.; OGALSKA, S. Cytomixis-Like Chromosomes/Chromatin Elimination from Pollen Mother Cells (PMCs) in Wheat-Rye Allopolyploids. **Nucleus**, v.53, p. 69-83, 2010.

KASHKUSH, K.; KHASDAN, V. Large-scale survey of cytosine methylation of retrotransposons and the impact of readout transcription from long terminal repeats on expression of adjacent rice genes. **Genetics**, v. 177, p. 1975–1985, 2007.

MCKINNEY, H. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v.26, p. 195-218, 1923.

MEHMOOD, A. M. J.; JASKANI, S.; AHMAD, R. Evaluation of genetic diversity in open pollinated guava by iPBS primers. **Journal of Agricultural Science**, v. 50, p. 591-597, 2013.

MELAYAH, D.; BONNIVARD, E.; CHALHOUB, B.; AUDEON, C.; GRANDBASTIEN, M. A. The mobility of the tobacco Tnt1 retrotransposon correlates with its transcriptional activation by fungal factors. **The Plant Journal**, v.28, p. 159–168, 2001.

MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira Fruticultura**, v.33, n.1, p. 83-91, 2011.

- MENDES, A.; PAGLIARINI, M.; BORGES, C. Meiotic Arrest Compromises Pollen Fertility in Aninterspecific Hybrid between *Brachiaria ruziziensis* × *Brachiaria decumbens*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.50, p.831-837, 2007.
- MORAES, M. C. DE.; GERALDI, I. O.; MATTA, F. DE P.; VIEIRA, M. L. C. Genetic and phenotypic parameter estimates for yield and fruit quality traits from a single wide cross in yellow passion fruit. **HortScience**, v.40, p.1978-1981, 2005.
- MORENO, P. E.; CAETANO, C. M.; OLAYA, C. A.; AGRONO, T. C.; TORRES, E. A. Chromosome elimination in intergeneric hybrid of *Oryza sativa* × *Luziola peruviana*. **Agricultural Sciences**, v.5, p.1344–1350, 2014.
- NASCIMENTO, A. S.; SOUZA, A. R. R.; ALFENAS, P. F.; ANDRADE, G. P.; CARVALHO, M. G.; PIO-RIBEIRO, G.; ZERBINI, F. M. Análise filogenética de potyvírus causando endurecimento dos frutos do maracujazeiro no Nordeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.378-383, 2004.
- NEVES, C. G.; JESUS, O. N.; LEDO, C. A. S.; OLIVEIRA, E. J. Avaliação agronômica de parentais e híbridos de maracujazeiro- amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, p. 191-198, 2013.
- NOVAES, Q. S.; REZENDE, J. A. M. Selected mild strains of *Passion fruit woodiness virus* (PWV) fail to protect pre-immunized vines in brazil. **Scientia Agricola**, v. 60, 4, p. 699-708, 2003.
- OLIVEIRA, E. J.; SOARES, T. L.; BARBOSA, C.J.; SANTOS-FILHO, H. P.; JESUS, O. N. Severidade de doenças em maracujazeiro para identificação de fontes de resistência em condições de campo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 485-492, 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**, n. 59, p. 1089-1099, 2012.
- PENHA, H. A.; PEREIRA, G. S.; ZUCCHI, M. I.; DINIZ, A. L.; VIEIRA, M. L. C.; FLACHOWSKY, H. Development of microsatellite markers in sweet passion fruit, and identification of length and conformation polymorphisms within repeat sequences. **Plant Breeding**, v.132, p.731–735, 2013.

PEREIRA, G. S.; NUNES, E. S.; LAPERUTA, L. D. C.; BRAGA, M. F.; PENHAHADINIZ, A. L.; MUNHOZ, C. F.; GAZAFFI, R.; GARCIA, A. A. F.; VIEIRA, M. L. C. Molecular polymorphism and linkage analysis in sweet passion fruit, an outcrossing species. **Annals of Applied Biology**, v. 162, p. 347-361, 2013.

POURTAU, N.; LAUGA, V.; AUDEON, C.; GRANDBASTIEN, M.; GOULAS, P.; SALVADO, J. The promoter of the Tnt1A retrotransposon is activated by ozone air pollution in tomato, but not in its natural host tobacco. **Plant Science**, v.165, p. 983–992, 2003.

ROLDÁN-RUIZ, I.; DENDAUW, J.; VAN BOCKSTAELE, E.; DEPICKER, A.; LOOSE, M. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). **Molecular Breeding**, v.6, p. 125-134, 2000.

SANTOS, E. A.; VIANA, A. P.; FREITAS, J. C. O.; SILVA, F. H. L.; RODRIGUES, R.; EIRAS, M. Resistance to *Cowpea aphid-borne mosaic virus* in species and hybrids of *Passiflora*: advances for the control of the passion fruit woodiness disease in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v.1, p. 123-134, 2015.

SANTOS, L. F.; OLIVEIRA, E. J.; SILVA, A. S.; CARVALHO, F. M.; COSTA, J. L.; PADUA, J. G. ISSR Markers as a Tool for the Assessment of Genetic Diversity in *Passiflora*. **Biochemical Genetics**, v. 49, p. 540-554, 2011.

SCHULMAN, A. H.; FLAVELL, A. J.; PAUX, E.; ELLIS, T. H. The application of LTR retrotransposons as molecular markers in plants. **Methods Molecular Biology**, v. 859, p. 115-153, 2012.

SHAN, X.; LIU, Z.; DONG, Z.; WANG, Y.; CHEN, Y.; LIN, X.; LONG, L.; HAN, F.; DONG, Y.; LIU, B. Mobilization of the active MITE transposons mPing and Pong in rice by introgression from wild rice (*Zizania latifolia* Griseb.). **Molecular Biology and Evolution**, v.22, p. 976–990, 2005.

SOUSA, M. A. F. **Avaliação da produtividade, incidência e severidade de doenças em frutos de 17 genótipos de maracujazeiro-amarelo, cultivados no Distrito Federal**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Brasília - DF, Universidade de Brasília, 120p. (2005).

CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados com base na severidade para o CABMV permitem a identificação de genótipos com resistência/tolerância genética com destaque para os acessos BGP188 (*P. edulis* f. *flavicarpa*) e BGP 170 (*P. malacophylla*).

Os agrupamentos de Tocher e UPGMA indicam a existência de variabilidade genética entre as espécies avaliadas, apresentando grupos com acessos similares e mais dissimilares com potencial a serem utilizados em programas de melhoramento genético.

Os descritores, através da análise conjunta de dados, possibilitam um melhor ordenamento das espécies com detecção de variabilidade genética intraespecífica em genótipos de *P. edulis* f. *flavicarpa* e nas demais espécies silvestres.

As técnicas multivariadas para estudo de diversidade genética empregando caracteres relacionados aos frutos demonstram ter potencial de uso na caracterização de germoplasma de *Passiflora*, sendo possível identificar variabilidade intra e interespecífica dos acessos bem como distinguir as espécies avaliadas.

Pela análise de componentes principais, as variáveis massa de casca, massa do fruto, diâmetro e comprimento de fruto contribuem para a máxima variabilidade observada nos acessos de *Passiflora*. Para essas características cinco medições são suficientes para predizer o valor real dos indivíduos com 90% de acurácia.

Os caracteres rendimento de suco e acidez titulável apresentam baixa repetibilidade, necessitando de uma quantidade maior de medições na seleção de genótipos com base nessas características.

A caracterização morfológica nas progênes híbridas possibilita a identificação de indivíduos com características mais similares aos parentais e com diferentes níveis de tolerância ao CABMV.

A incidência de virose avaliada nas progênes híbridas indica que as progênes das séries RC1-H44 e RC1-H57, foram mais similares ao *P. cincinnata* e tolerantes ao CABMV.

O híbrido RC1-H57-83 se destaca por apresentar menor índice de severidade do CABMV (15,6%), podendo ser utilizado como genitor feminino na geração RC2.

Os marcadores iPBS, baseado em retrotransposon, foram os primeiros a serem utilizados na avaliação de genotipagem de híbridos RC1 de *Passiflora*. Os dados gerados podem ser úteis no desenvolvimento de estratégias de melhoramento contribuindo para a compreensão do sistema de hibridação em *Passiflora*.

As progênies RC1-H57-89 e RC1-H49-77 com maior percentagem do genoma recorrente apresentam também maior severidade de virose. Por outro lado, as progênies RC1-H57-85 e RC1-H57-91 por serem mais tolerantes ao CABMV são promissoras ao próximo ciclo de retrocruzamento.

A análise de agrupamento revelou variabilidade genética entre as progênies RC1, o que demonstra potencial para serem utilizadas nas gerações seguintes de retrocruzamento.